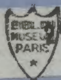
ISSN 0181-1576

CRYPTOGAMIE

ALGOLOGIE

TOME 13 Fascicule 3 1992



PUBLICATION TRIMESTRIELLE
AVEC LE CONCOURS DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Août 1992

CRYPTOGAMIE
Algologie

ANCIENNE REVUE ALGOLOGIQUE
Fondée par P. Allorge et G. Hamel en 1922

Directeur-Rédacteur: P. Bourrelly
Editeur: A.D.A.C. - 12 rue Buffon F-75005 Paris.

COMITÉ DE LECTURE

MANUSCRITS

Les manuscrits doivent être adressés (en 2 exemplaires) à la rédaction de Cryptogamie, Algologie. L'avis d'un lecteur au moins sera requis avant accord pour publication. Bien qu'étant une revue de langue française, les articles rédigés en anglais, allemand, italien et espagnol sont acceptés. Les disquettes de micro-ordinateur (IBM, IBM compatible, et MacIntosh) sont vivement souhaitées. Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le fascicule 1 de chaque tome. Les auteurs recevront 25 tirés-à-part gratuits; les exemplaires supplémentaires seront à leur charge.

TARIFS DES ABONNEMENTS Tome 13, 1992

CRYPTOGAMIE comprend trois sections: Algologie, Bryologie-Lichénologie, Mycologie.

Pour une section:	France: (326 F ht) 332,85 F ttc -	Étranger: 357,00 F
Pour les 3 sections:	France: (918 F ht) 937,28 F ttc -	Étranger: 1000,00 F

Paiement par chèque bancaire ou postal à l'ordre de:
A.D.A.C. - CRYPTOGAMIE (CCP La Source 34 764 05 S),
adressé à: A.D.A.C. 12, rue Buffon, F-75005 Paris.

CRYPTOGAMIE, Algologie est indexé par *Aquatic Sciences Fisheries Abstracts Part 1, Biological Abstracts, Chemical Abstratcs, Current Contents, Marine Science Contents Tables (F.A.O.)*, Publications bibliographiques du CNRS (Pascal).

CRYPTOGAMIE

ALGOLOGIE

TOME 13 FASCICULE 3 1992



CONTENTS

A.J. CALADO and J.A. RINO - Observations and taxonomic considerations on a *Tetrasporidium* (Chlorophyta, Tetrasporales) found in Portugal 157

G. NOVARINO and A.R. MUFTAH - Observations on the mucilage filaments of some species of *Mastogloia* (Bacillariophyceae) 169

O.H. SAYED and A.K. HEGAZY - Inhibition of secondary carotenoid biosynthesis during degreening of *Chlorella fusca* (Chlorococcales, Chlorophyta) and implications for growth and survival 181

M. MORLAIX and P. LASSUS - Nitrogen and phosphorus effects upon division rate and toxicity of *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) Dodge 187

M. PENOT - The long distance transport in large brown algae. Actual data and projects 197

C. BILLARD - *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae), planctonic marine alga reported for the first time in France 225

Books review 233



OBSERVATIONS AND TAXONOMIC CONSIDERATIONS ON A *TETRASPORIDIUM* (CHLOROPHYTA, TETRASPORALES) FOUND IN PORTUGAL

A.J. CALADO and J.A. RINO

Department of Biology, University of Aveiro, 3800 Aveiro, Portugal.

ABSTRACT - *Tetrasporidium javanicum*, an infrequent Tetrasporales, is cited for two localities in Portugal, one in the center and the other in the north of this country, and its morphological features are described. Its cytological variability is discussed and, as a result, *T. fottii* is considered untenable as an independent species. Some parameters of the habitat are also provided. This is, so far, the westernmost report of this organism, and the first one for Portugal.

RÉSUMÉ - *Tetrasporidium javanicum*, Tetrasporales peu fréquente, est signalé dans deux localités du Portugal, l'une au centre et l'autre au nord de ce pays. La morphologie de cet organisme est décrite et sa variabilité cytologique est discutée. D'après cette discussion, on considère que *T. fottii* ne doit pas être retenu comme une espèce indépendante. Des paramètres physico-chimiques de son habitat sont aussi présentés. Il s'agit, à notre connaissance, de la mention la plus occidentale de cette algue.

KEY WORDS : phytogeography, taxonomy, Tetrasporales, *Tetrasporidium fottii*, *T. javanicum*.

INTRODUCTION

In April 1991 one of our students (Ângelo E.R. Ferreira) brought into the laboratory a sample of algae he had collected in a small stream near his house in Passadouro, Aguada de Baixo (Águeda, central Portugal). It was mainly composed of *Batrachospermum* and a mucilaginous green thallus in which perforations could be seen even with the unaided eye. Its cells showed tetrasporalean characteristics but the absence of pseudocilia (verified with oil immersion objectives in phase-contrast) precluded the possibility of it being a *Tetraspora*. A consultation of Bourrelly's (1981) first volume of "Les Algues d'eau douce" yielded its identification as *Tetrasporidium javanicum* Möbius. The organism was then regularly collected for about a month after which it completely disappeared from the stream. Quite curiously, the very same alga was collected by the very same student from a locality in a mountain in the north of Portugal (Gerês) during a weekend visit in May.

Since it was first described in 1893, from a locality in Java, this organism has not been reported many times, and mostly for tropical and sub-tropical regions (Iyengar, 1932; Sarma & Suryanarayana, 1969; Nurul Islam, 1970; Pandey *et al.*, 1980). Only twice has the genus *Tetrasporidium* been reported for lo-

calities in Europe, the first time for Czechoslovakia by Fott *et al.* (1965), and the second one for ponds in Brittany (France) by Couté & Tracana (1981). In spite of the relatively few occasions in which it was described, when it comes to details in morphological and cytological characteristics a number of differences can be found between the observations of the several authors, which brings about some confusion as to the correct identity of the organism, as well as to its rightful systematic position.

MATERIALS AND METHODS

The observations were made on the living material, collected from the stream at Passadouro (where it grew attached mainly to *Callitriche stagnalis* Scopoli), as well as from Gerês (where it was found in a small ditch along a road). The organism was also grown for some time in "liquid Chlorella" (LCol) culture solution (for composition see Santos & Mesquita, 1986) at room conditions, but no attempt was made to isolate it.

A WILD M20 microscope equipped with a camera lucida was used for the drawings, and a DIALUX 20EB (equipped with a 1.3 NA oil immersion objective) was used for the photographs. Some physico-chemical parameters of the water in the stream at Passadouro were determined the seventh of May, when the colonization by *Tetrasporidium* was quite extensive. Conductivity, pH, water temperature, and dissolved oxygen were measured *in situ*, and the other analyses were performed after the arrival at the laboratory, by current methods (Rodier, 1971; Apha, 1971).

OBSERVATIONS AND RESULTS

Description of the organism (based mainly on our own observations)

Macroscopically the alga formed soft bright green masses attached by one end to several substrata[1] (mainly to the branches of *Callitriche stagnalis*) and stretched by the flowing water, which made them look rather narrow and reach a maximum length of ca. 10cm (fig. 8).

The adult thallus, consisting of a pouch-like mucilaginous layer with numerous perforations, appears under the microscope as a flattened bag in which the two layers anastomose quite frequently, giving it a net-like appearance when observed in low magnification (fig. 9). The cells lie within the mucilage in approximately one layer without any wall or cytoplasmic formation connecting them (fig. 10). They are ellipsoid to almost spherical (ranging from 6 to 10-(11) μm in length) and show a green parietal chloroplast with a four to six lobed margin and a large pyrenoid (ca. 1 μm to over 3 μm in the larger cells); the pyrenoid is located in the middle enlarged part of the chloroplast and is sheathed by starch grains, this enclosure frequently being composed of two distinct halves (figs. 1 and 13A). Two contractile vacuoles are usually present near the anterior part of the cell, where a small round papilla can sometimes be seen. In the anterior or in the medium portion of the chloroplast an eyespot is sometimes present. The interfase nucleus, showing a large nucleolus, is often visible without co-

[1] In the stream at Passadouro, besides *Callitriche stagnalis*, it was found attached to other aquatic plants, small stones, and even, in large numbers, to a plastic tube. In the ditch in Gerês it was found on small branches and leaves fallen from nearby trees.

loration and can be found in the posterior, medium, or anterior part of the cell. Numerous small granules can be seen in the cytoplasm. The cell wall is usually thin, although in some cells it may reach over 0.5 μm in thickness. Cells of any size can, under certain circumstances, produce two flagella of equal length (fig. 2), which can remain immobile or gain motility, in which case these cells swim away from the mucilage, thus leaving the thallus. The cells multiply themselves through the division of the contents of a cell into 2-8 autospores (figs. 3, 10, 11 and 12); these daughter cells then slowly separate from each other as the mother enlarges without breaking up until it eventually gelatinizes completely. Propagation of the organism occurs through the fragmentation of the thallus and also through the formation and release of biflagellate cells that swim about, attach themselves to a substrate, and produce a new thallus. The young thallus is a compact mass of mucilage of cylindrical or clavate shape, attached by one end, with the cells scattered below its surface.

The size of the cells in culture was found to be more variable; in a 6 day old culture cells could be found that reached 13 μm in diameter, and in a very unhealthy looking thallus of one month old culture, contamined by a large amount of a *Stigeoclonium* species, many of the cells were extremely reduced (down to a minimum of 3.5 μm) and some very large cells of about 17 μm could be seen.

The position of the chloroplast (and, of course, of the pyrenoid) is also variable, even in field material. In many cells, especially in small ones (and, as might be expected, in most autospores), the pyrenoid occupies a lateral position and the chloroplast does not fill the posterior end of the cell. In other cells the pyrenoid is near or at the rear portion of the cell and, in such cases, the chloroplast may seem in optical section to be cup-shaped; it is not, however, a real cup-shaped chloroplast like the one in, e.g., *Chlamydomonas reinhardtii* Dangeard, as the observation of the cell near its surface (where the lobes of the chloroplast are visible) always demonstrates (fig. 4 and 13).

Two contractile vacuoles pulsating in the anterior part of the cell seem to represent its "normal" state in the natural environment, since in all freshly collected thalluses examined they were evident in most of the cells. Only in situations in which the organism was submitted to some kind of stress the contractile vacuoles were found to be lacking in most cells; this was the case in microscope slides left overnight in the microscope, in which only the mucilage prevented total drought, and in old contaminated cultures.

The eyespot was present in all flagellated cells examined and also in non-flagellated cells; the proportion of the latter that showed an eyespot was, however, quite different in different collections, and varied, presumably, with the physiological state of the cells. In the first collected thalluses most of the cells (including autospores) had an eyespot, whereas in later collections few cells were found exhibiting one. In a culture a week old, in which there was a large density of cells in the mucilage, and many cells were sporulating, not one cell was found with an eyespot, although in all of them contractile vacuoles could be seen.

The numbers of autospores most frequently produced were 4 and 8. In the former case the 4 daughter cells can be formed simultaneously (fig. 5), or there can be a first division into two cells, which undergo a second, not always synchronous, division so that groups of three cells can be found in which one cell is bigger than the other two (fig. 6). The formation of two consecutive generations of autospores inside the still clearly visible parental cell wall was ob-

served in culture. The formation of motile flagella by recently divided cells (lying very close to each other and to the mother cell wall) has also been observed, the cells being, in this case, best named zoospores (figs. 7 and 14); their release, however, could not be observed.

In some of the colonies examined, an amoeboid organism that fed on the cells of the alga, reminding use of the one described by Iyengar (1932) under the name *Vampyrella*, was found living in the mucilage (fig. 15).

Habitat

The physico-chemical parameters determined from the stream at Passadouro are given in table I.

Temp.	pH	Cond.	Miner.	Diss. O_2	% sat. O_2	COD_{Mn}	Alcal.	Cl^-
13.9	6.5	125	118	8.4	84	1.2	9.8	21

$N(NO_3^-)$	$N(NO_2^-)$	$N(NH_4^+)$	$P(PO_4^{3-})$	SiO_2	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}
1.44	det. lim.	0.030	0.062	3.6	12.1	1.3	3	1.8

Table I. - Parameters of the water in the stream at Passadouro (7/May).
det. lim.: determined value falls within the detection limit of the method used. Temp.: temperature in °C. Cond.: conductivity at 20°C in μ S. Miner.: mineralization in mg/l (evaluated from the conductivity at 20°C). % sat O_2: percentage of the maximum equilibrium O_2 concentration in pure water at the same temperature. COD_{Mn}: oxygen consumed during four hours at room temperature in acid medium (mg/l). Alcal.: alcalinity in mg/l of bicarbonate. All other values are in mg/l.

This stream is about 1.5 m wide and some 20 to 30 cm deep, and runs through agricultural fields. Not surprisingly, its margins are full of vegetation and its potential for primary production is high, as the determined values of nitrates and phosphates clearly show (see table I). Nevertheless, the water quality regarding the quantity and intensity of decomposition of dead organic matter is still good, as suggested by its transparency, the absence of foul smells, the relatively low value of COD_{Mn}, the sandy rather than muddy bottom, and the presence of *Batrachospermum*.

The ditch in Gerês occasionally receives some quantity of the effluent of a horse stable so that high levels of nitrogen compounds may sometimes be present in the water, although in general clean mountain water greatly reduces their concentration.

DISCUSSION

The authors providing descriptions of *Tetrasporidium* species can be divided into two groups: (1) those that encountered contractile vacuoles and include the genus in the Tetrasporales (Iyengar, 1932; Fott *et al.*, 1965; Sarma & Suryanarayana, 1969; Pandey *et al.*, 1980; Couté & Tracanna, 1981), and (2) one that found neither these structures nor the formation of motile cells and so includes it in the Chlorococcales (Nurul Islam, 1970). None of these authors expresses any doubt whether he is really in presence of *Tetrasporidium*, the iden-

tification at the genus level being based upon the general morphological characteristics of the thallus and not on cytological fine structure. The striking appearance of the organism at low power magnification, of which the several authors provide a figure, along with the absence of pseudocilia, seems in fact to justify this procedure, although it might appear unlikely that an organism would, in different occasions, show features that make it sometimes a member of Tetrasporales and other times one of Chlorococcales. The variability demonstrated by the organism studied in the present work suggests, however, that this may well be the case.

The nature of the organism may be understood as follows: (1) all of its cells are capable of converting themselves into swarmers under appropriate circumstances; (2) the swarmers typically have an eyespot and so have the cells that have progressed enough in their differentiation into motile cells; (3) when environmental conditions are inadequate for propagation by motile cells to occur the cells keep only their contractile vacuoles and do not form an eyespot or flagella; (4) the differentiation into swarmers can be arrested at any stage; (5) under given (possibly unfavourable) environmental conditions the cells can even loose the contractile vacuoles while keeping some degree of viability.

Since the vegetative cells of the organism show the capacity of converting themselves directly into flagellated cells with contractile vacuoles (and, in this case, also an eyespot) there can be no doubt that systematically it belongs to Tetrasporales, in which the family Palmellopsidaceae defines as in Ettl & Gärtner (1988) is appropriate.

For the determination of the species some further considerations are in order. Ettl & Gärtner (1988) consider three species in the genus, and provide a key for their identification. By following it one is confronted with the option between a parietal lobed chloroplast with the pyrenoid lying in a lateral position in the cell, and a cup-shaped chloroplast with a basal pyrenoid. The former option leads to *T. fottii* Couté et Tracanna while the latter follows to the distinction between *T. javanicum* and *T. lundii* Pandey *et al.*, the latter a species clearly inadequate for our material.

The species *T. fottii* was created by Couté & Tracanna (1981) for the organism described by Fott *et al.* (1965) from Czechoslovakia, based on the difference between the positions of the pyrenoid and of the nucleus: lateral and posterior, respectively, in Czechoslovakian material, while basal and central or anterior in French specimens. No difference is called upon between the structure of both types of chloroplasts and this is, in fact, the same: that of a parietal chloroplast with a conspicuous pyrenoid and a lobed margin. This is most evident in the drawings of Fott *et al.* (1965), and can also be seen in the drawings of Couté & Tracanna (1981), as well as in their figure 5 of plate II (a transmission electron micrograph) where a lobe is clearly visible on the left side of the cell.

The position of the nucleus is not a strong distinctive feature, as it is spatially limited by the other organelles, especially the chloroplast. Moreover, the organism being a member of Chlorophyceae, a strong connection between the nucleus and other internal structures of the cell (such as the membrane continuity with a chloroplast envelope that is common among the Chromophyta), that would tend to keep it in a fixed position, is not to be expected.

Since our material shows aspects that make it similar to both these "species", and until more is known about the variability within this genus, it is pro-

posed that *T. fottii* Couté et Tracanna be considered synonymous with *T. javanicum* Möbius.

Although the organism seems to appear for only short periods in a place, after which it apparently disappears, along with the fact that the number of eyes on the lookout for natural novelties is nowadays considerably less than a few decades ago, its striking appearance makes it likely to be noticed after some time of occurrence in a region. These are, to the best of our knowledge, the furthermost western localities cited for *Tetrasporidium*, which might mean that it is expanding its area of distribution.

EXPLANATION OF PLATES

Plate I - 1. Vegetative cells. Note the position of the nucleus in the left cell. 2. Motile cells with two flagella of equal length. 3. Cell multiplication by the formation of 4 and 8 autospores. 4. Cells with apparently cup-shaped chloroplasts in optical section (top drawings) but showing their lobed margin near the surface (bottom drawings). 5. Formation of 4 autospores in one plane (left) and in two planes (right) (Schematic). 6. Formation of autospores by two not synchronous divisions: only one daughter cell has divided yet (Schematic). 7. Zoospores with motile flagella forming inside the parental cell wall; drawn after fig. 14.

Plate II - 8: *Tetrasporidium* in the stream at Passadouro attached to *Callitriche stagnalis* and to a plastic tube. 9. Net-like appearance under low power magnification; in B the edge of the thallus can be seen. Scale bar: 500 μm. 10. Disposition of the cells in the thallus. Scale bar: 50 μm.

Plate III - 11. Formation of autospores. Groups of 8 (left and center) and 4 (right) autospores can be seen. Note mother cell wall (arrowheads) and the chloroplast lobes (arrows). 12. groups of autospores still not separated (left and center) and 4 autospores already apart but still inside the parental cell wall (right); in B a different focusing plane of the center and right group of autospores can be seen. Note the contractile vacuoles (arrows). Scale bar: 20 μm (same scale throughout).

Plate IV - 13. Morphology of the chloroplast. A - cells showing seemingly cup-shaped chloroplasts although the pyrenoids are not perfectly basal; note the starch two-halved enclosure of the pyrenoid. B - Notice deeply lobed chloroplast (arrow). C - Large cell with apparently cup-shaped chloroplast; note the large contractile vacuole and the position of the pyrenoid. D - Note the clearly visible eyespot in two of the 4 autospores on the right (arrows). E - Note the lobes of the chloroplasts (arrows) and the position of the pyrenoids (arrowheads). 14. Zoospores; the arrow indicates the flagella (see also fig. 7). 15. Parasitic amoeboid organism. Scale bar: 20 μm (same scale throughout).


1
2
3
4
5
6
7
10 µm

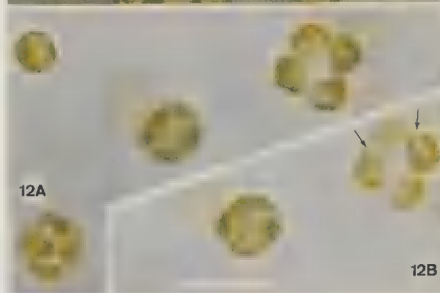

8


9A
9B

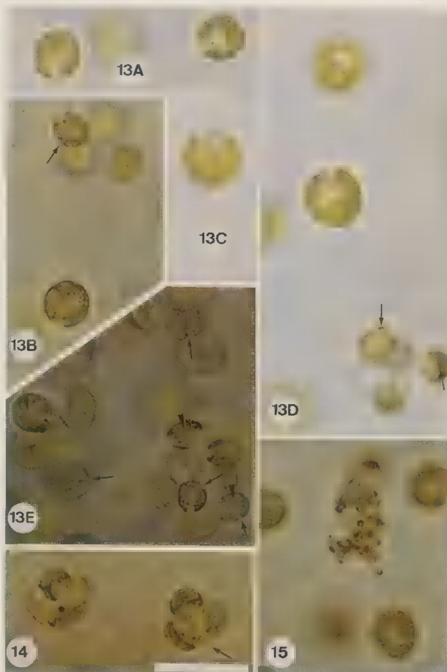

10



11






13A
13B
13C
13D
13E
14
15

ACKNOWLEDGEMENT

The authors have the pleasure of presenting their thanks to the investigator Ângelo Pereira for the identification of the species of *Callitriche*.

REFERENCES

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA), 1971 (13th ed.) - *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association. New York, 874 p.

BOURRELLY P., 1981 - (Reprint with modifications and additions). *Les Algues d'Eau Douce. Tome I: Les Algues Vertes*. N. Boubée & Cie. Paris, 572 p.

COUTE A. & TRACANNA B., 1981 - Sur la présence en France de *Tetrasporidium javanicum* Moebius (Chlorophyta, Euchlorophyceae, Tretrasporales) et sa position systématique. *Cryptogamie, Algol.* 2 (3): 209-219.

ETTL H. & GÄRTNER G., 1988 - *Süsswasserflora von Mitteleuropa. 10: Chlorophyta II. Tetrasporales, Chlorococcales, Gloeodendrales*. Gustav Fischer. Stuttgart, 436 p.

FOTT B., NOVAKOVA M. & KALINA T., 1965 - Morphology, reproduction and occurrence of a tropical alga, *Tetrasporidium javanicum* Möbius (Chlorophyceae). *Preslia (Praha)* 37: 380-386.

IYENGAR M.O.P., 1932 - Two little known genera of green algae (*Tetrasporidium* and *Ecballocystis*). *Ann. Bot.* 46 (182): 191-199.

NURUL ISLAM A.K.M., 1970 - The genus *Tetrasporidium* in East Pakistan. *Rev. Algol.* n.s. 10 (1): 85-89.

PANDEY R.S., TIWARI G.L. & PANDEY D.C., 1980 - Observations on two species of *Tetrasporidium* Moebius (Chlorophyta, Tetrasporales). *Nova Hedwigia* 32 (4): 779-786.

RODIER J., 1971 - *L'analyse chimique et physico-chimique de l'eau*. Dunod. Paris, 700 p.

SANTOS M.F. & MESQUITA J., 1986 - The culture collection of Algae of the department of Botany University of Coimbra. *Bol. Soc. Brot.* (S. 2) 59: 353-373.

SARMA Y.S.R. & SURYANARAYANA G., 1969 - Observations on morphology, reproduction and cytology of *Tetrasporidium javanicum* Moebius from North India. *Phycologia* 8 (3/4): 171-175.

OBSERVATIONS SUR LES FILAMENTS MUCILAGINEUX CHEZ QUELQUES ESPÈCES DE *MASTOGLOIA* (BACILLARIOPHYCÉES)

Gianfranco NOVARINO[1]* et Abdul R. MUFTAH[1, 2]

(1) UCNW School of Ocean Sciences, Marine Science Laboratories, Menai Bridge, Gwynedd LL59 5EY, United Kingdom.
(2) University of Qatar, Marine Science Department, P.O. Box 2713, Doha, State of Qatar.

RÉSUMÉ - Les filaments mucilagineux produits par quelques espèces de *Mastogloia* Thwaites ex Wm. Smith (Bacillariophycées), ont été étudiés en microscopie photonique et électronique à balayage. Chez *M. erythraea* Grun., les cellules entourées par une gaine mucilagineuse commune n'ont pas de filaments. Les cellules isolées, par contre, montrent de nombreux filaments qui émergent à partir des pores partectaux de la valvocopula; ces filaments sont très fins, non ramifiés et de la même longueur que les cellules. *Mastogloia* sp. possède des filaments ramifiés, avec une partie basale élargie. Les filaments de *M. fimbriata* (Brightwell) Cleve, dont le nombre égale celui des partecta de la valvocopula, sont souples, épais et aplatis. Ils semblent constituer un seul tout avec la gaine entourant la cellule, et possèdent des striations longitudinales très fines. Les pédoncules mucilagineux produits par *Achnanthes longipes* C.A. Agardh possèdent aussi des striations, en relation peut-être avec leur mode de sécrétion. Une coloration au rouge de ruthénium démontre la présence de polysaccharides acides dans les filaments et la gaine de *M. fimbriata*. *Mastogloia decussata* Hust., *M. lanceolata* Thw. ex Wm. Smith, et *M. paradoxa* Grun. *in* Cleve et Möller n'ont pas de filaments ni de gaine, tandis que *M. cribrosa* Grun. possède une gaine mais pas de filaments. Les observations semblent confirmer la fonction sécrétrice des partecta.

ABSTRACT - The mucilage filaments of some species of *Mastogloia* Thwaites ex Wm. Smith (Bacillariophyceae), have been studied using light and scanning electron microscopy. In *M. erythraea* Grun., cells surrounded by a common mucilage sheath lack filaments. By contrast, isolated cells have numerous filaments emerging from the partectal pores of the valvocopula; these filaments are very thin, unbranched, and of the same length as the cells. *Mastogloia* sp. has branched filaments with an enlarged basal portion. The filaments of *M. fimbriata* (Brightwell) Cleve, whose number is equal to that of the partecta of the valvocopula, seem to constitute a single mass with the sheath surrounding the cell. They are supple, thick and flattened, and bear fine longitudinal striations. The mucilage stalk produced by *Achnanthes longipes* C.A. Agardh also bears striations, whose presence could depend on the mode of stalk secretion. Ruthenium red staining reveals the presence of acid polysaccharides in the filaments and sheath of *M. fimbriata*. *Mastogloia decussata* Hust., *M. lanceolata* Thw. ex Wm. Smith, and *M. paradoxa* Grun. have no filaments or

* Adresse actuelle: Microbiology Division, Department of Zoology, Natural History Museum, Cromwell Road, London SW7 5BD, United Kingdom.

Communication présentée au XIe Colloque de l'Association des Diatomistes de langue française, Douai, 24-27 septembre 1991.

sheaths, whereas *M. cribosa* Grun. has a sheath but no filaments. The observations seem to confirm the function of the partecta as sites of mucilage secretion.

MOTS CLÉS : *Mastogloia*, Bacillariophycées, sécrétions mucilagineuses, microscopie électronique à balayage.

INTRODUCTION

Les diatomées du genre *Mastogloia* Thwaites ex Wm. Smith (plus de 400 taxons décrits selon Novarino, 1989), sont caractérisées par la présence d'une bande cingulaire pourvue d'une rangée de chambres (partecta selon la nomenclature de Ross *et al.*, 1979) sur la face interne. Cette "bande partectale" est contiguë à la valve: il s'agit donc d'une valvocopula, dont l'intégration mécanique avec la valve est parfois complexe (Novarino, 1990). Grâce surtout à une étude en microsocpie électronique à transmission (M.E.T.) (Stoermer *et al.*, 1964), mais aussi des études en microscopie à balayage (M.E.B.) (Ricard, 1975; Stephens & Gibson, 1979a, b, 1980a, b, c; Yohn & Gibson, 1981, 1982a, b; Gibson & Stephens, 1985; Kemp & Paddock, 1986, 1989, 1990; Novarino, 1987, 1989; Paddock & Kemp, 1988, 1990), on admet que les partecta communiquent avec l'extérieur du frustule, grâce à des pores (pores partectaux) présents sur la face externe de la valvocopula. Souvent cette communication est indirecte; les partecta sont alors en rapport physique avec des canaux partectaux, d'habitude assez longs et étroits, s'ouvrant à leur tour dans les pores partectaux. Il existe aussi des espèces où les partecta s'ouvrent plus ou moins directement dans les pores partectaux.

Selon Grunow (1877), la fonction des partecta est celle de produire la gaine mucilagineuse, déjà décrite par Smith (1856), qui entoure le frustule chez de nombreuses espèces. Grunow s'appuie sur l'observation que *M. binotata* (Grun.) Cleve (= *Orthoneis binotata* Grun.), qui possède deux partecta par valvocopula et une gaine bien développée, possède aussi deux longs filaments mucilagineux (*two long horns:* Grunow, 1877, p. 177), qui semblent émerger chacun au niveau d'un partectum. Il remarque aussi que chez *M. fimbriata* (Brightwell) Cleve (= *Cocconeis fimbriata* Brightwell = *Orthoneis fimbriata* (Brightwell) Grunow), une espèce pourvue d'un plus grand nombre de partecta que *M. binotata*, il existe aussi un plus grand nombre de filaments.

Près d'un siècle plus tard, les sécrétions mucilagineuses font l'objet d'études en microscopie électronique, dont les résultats vont dans le sens de l'hypothèse de Grunow. En utilisant le M.E.T., Stoermer *et al.*, (1964) montrent que le matériel constituant la gaine est présent à l'extrémité des canaux partectaux de *M. grevillei* Wm. Smith, près des pores partectaux. Stephens & Gibson (1979a), étudient les sécrétions de quelques espèces au M.E.B. Une gaine bien développée et de nombreux filaments sont présents chez *M. cribrosa* Grun. Par contre, *M. erythraea* Grun., *M. lanceolata* Thw. ex Wm. Smith, *M. pusilla* Grun., et *M. schmidtii* Heiden et Kolbe, n'ont que des filaments; chez ces trois dernières espèces, ceux-ci émergent visiblement à partir des pores partectaux. Kociolek *et al.*, (1987), observent *M. binotata* au M.E.B. et au microscope photonique (M.P.). Au M.P., ces auteurs montrent des striations longitudinales sur la surface des filaments, en relation peut-être avec leur mode de sécrétion.

Dans des échantillons planctoniques récoltés le long de la côte du Qatar, nous avons trouvé beaucoup d'espèces de *Mastogloia*. Ayant examiné les

sécrétions mucilagineuses de certaines d'entre elles, nous pensons pouvoir apporter quelques informations nouvelles sur leur structure et leur origine.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les stations d'échantillonnage le long de la côte de la Baie de Salwa, Qatar, sont mentionnées par Novarino & Muftah (1991). Les échantillons ont été récoltés avec un filet à phytoplancton de 55 µm de vide de maille, et fixés au formaldéhyde (dilution à 4% dans l'eau de mer, ou bien au glutaraldéhyde (dilution à 2.5-3% dans l'eau de mer, ou bien tampon phosphate 0.1 M, pH 7.2). Il n'a pas été possible de comparer de façon rigoureuse les effets des diverses méthodes de fixation sur un même échantillon ou une même espèce, mais les résultats obtenus avec l'une ou l'autre méthode nous semblent équivalents. Après avoir été concentrés par centrifugation, les échantillons fixés ont été observés en microscopie photonique en fond clair ou contraste de phase (M.P.). Ensuite, après 3 rinçages dans l'eau de mer filtrée ou le tampon, ils ont été déshydratés dans l'acétone à concentrations croissantes. Successivement, les échantillons ont été introduits (en suspension dans l'acétone à 100%) dans des capsules BEEM, utilisées d'habitude pour préparer des inclusions en résine pour la microscopie électronique à transmission. Afin de pouvoir les utiliser pour contenir le matériel lors de la dessication au point critique, ces capsules avaient été préalablement modifiées d'une façon semblable à celle indiquée par Marchant (1973). Les capsules ainsi préparées et remplies ont été introduites dans un appareil Polaron pour la dessication au point critique, effectuée en utilisant du CO_2 comme fluide de transition. Les échantillons, placés sur des filtres en polycarbonate Nuclepore de 13 mm de diamètre ou des fragments de mica collés sur des porte-objets en aluminium avec du ruban adhésif à double face, ont été ensuite métallisés avec de l'or dans un appareil Polaron E5000 à platine refroidie, et observés avec des microscopes électroniques à balayage Cambridge Stereoscan 120 et Hitachi S520 à 10 ou 15 kV. Le nombre relativement petit de cellules d'une même espèce dans les échantillons disponibles ne nous a pas permis de préparer des coupes pour la microscopie électronique à transmission.

RÉSULTATS

Certaines espèces semblent dépourvues de toute sécrétion, gaine ou filaments, autour du frustule; c'est le cas de *M. decussata* Hust., *M. lanceolata*, et *M. paradoxa* Grun. *in* Cleve et Moller (Figures 1-3). Une autre espèce, *M. cribrosa*, semble posséder une gaine mucilagineuse, mais pas de filaments (Fig. 6).

Chez *M. erythraea*, plusieurs cellules dépourvues de filaments peuvent être entourées par une gaine mucilagineuse commune (Fig. 5). Les cellules isolées n'ont pas de gaine; elles possèdent par contre de nombreux filaments, très ténus, aussi longs que les cellules mêmes (environ 40-50 µm) (Fig. 4). Le M.E.B. montre que ces filaments sont cylindriques et non ramifiés, ont un diamètre de 0.15-0.35 µm environ, et émergent à partir des pores partectaux de la valvocopula (Figures 10, 11).

Chez une petite espèce non identifiée (Fig. 12), le M.E.B. montre des filaments aussi longs que les cellules (environ 20-30 µm), tout comme chez *M. erythraea*. Néanmoins, contrairement à cette espèce-ci les filaments sont ramifiés, avec une partie basale élargie. Ils sont aussi un peu plus épais (0.2-0.6 µm environ).

Chez *M. fimbriata*, le M.P. montre une gaine évidente, ainsi que des filaments très longs (jusqu'à 200 µm) et épais (4-10 µm), à l'apparence souple, et pourvus de striations longitudinales (Figures 7, 8). Le nombre de filaments égale parfaitement celui des partecta de la valvocopula. Une coloration au rouge de ruthénium teinte la gaine très intensément (Figures 8, 9). Les filaments prennent une coloration un peu moins forte; les striations deviennent plus évidentes. Le M.E.B. (Figure 13, 14), montre des filaments aplatis qui semblent constituer un seul tout avec la gaine; les striations, présentes sur toute la longueur des filaments, sont très fines.

DISCUSSION

La fonction des filaments mucilagineux chez *Mastogloia* demeure inconnue. Une relation avec le mouvement de la diatomée a déjà été exclue (Stephens & Gibson, 1979a). La présence non constante de filaments chez quelques espèces suggère une relation avec les conditions du milieu extérieur. Par exemple, *M. angulata* Lewis n'a pas toujours de filaments (Stephens & Gibson, 1979a), tout comme *M. lanceolata*, observée par nous-mêmes sans filaments, et par Stephens & Gibson (1979a), avec des filaments semblables à ceux de *M. erythraea*. *Mastogloia cribosa* a été observée par Stephens & Gibson (1979a) avec filaments et gaine, tandis que dans nos échantillons elle possède une gaine mais pas de filaments. La presence de filaments semble varier aussi pendant le cycle vital. Dans nos échantillons *M. erythraea* possède de nombreux filaments quand les cellules sont isolées et sans gaine; par contre, les filaments sont absents quand plusieurs cellules sont entourées par une gaine commune. En principe, l'absence de filaments pourrait dépendre aussi d'un effet fortuit, en relation avec le protocole de préparation des échantillons pour la microscopie électronique à balayage. Chez quelques espèces d'algues flagellées, par exemple, ce type de protocole (fixation et déshydratation chimiques suivies de la dessication au point critique), peut provoquer un rétrécissement mesurable des cellules (Novarino, 1991), ainsi que la perte de certaines structures cellulaires (e.g., les flagelles). Toutefois, dans nos échantillons de *Mastogloia* les espèces où les filaments sont absents (ou bien pas toujours présents), ont été observées sans filaments aussi bien avec le M.P. qu'avec le M.E.B.

Nos observations sur *M. erythraea* confirment que les filaments mucilagineux émergent bien à partir des pores partectaux de la valvocopula. En tenant compte aussi du fait que *M. fimbriata* possède autant de filaments que de partecta, tout comme *M. binotata* (Grunow, 1877; Kociolek *et al.*, 1987), l'hypothèse sur la fonction sécrétrice des partecta semble donc se confirmer. Chez *M. grevillei*, Stoermer *et al.*, (1964) remarquent que l'énergie nécessaire pour la sécrétion pourrait être fournie par les nombreuses mitochondries présentes dans le cytoplasme occupant la "chambre longitudinale" de la valvocopula (aussi appelée *intrapartectal cylinder*, ou cylindre intrapartectal, par Novarino, 1987). Néanmoins, les cylindres intrapartectaux sont absents chez des espèces capables de produire ces sécrétions mucilagineuses, *M. erythraea* et *M. fimbriata* en premier lieu (Novarino & Muftah, non publié).

Nos observations montrent qu'il existe plusieurs types de filaments mucilagineux chez *Mastogloia* (Tableau I). Nous ignorons la signification de cette diversité. Toutefois, il semble qu'il existe une distinction nette entre les espèces au frustule "elliptique", telles que *M. fimbriata* et *M. binotata*, où les filaments sont longs, épais, et striés, et les espèces "lancéolées", qui possèdent des filaments plus courts, beaucoup plus fins, et non striés.

Tableau I. - Quelques types de filaments mucilagineux présents chez le genre *Mastogloia*. F = fixation au formaldéhyde, G = fixation au glutaraldéhyde.

Type	Longueur (μm)	Diamètre (μm)	Caractéristiques	Fixation	Origine du matériel
M. erythraea	40-50	0.15-0.35	Non striés, non ramifiés, diamètre homogène	F, G	Baie de Salwa, Quatar
Mastogloia sp.	20-30	0.2-0.6	Non striés, ramifiés, partie basale élargie	F	Baie de Salwa, Quatar
M. fimbriata	200	4-10	Striés, aplatis, souples, contiennent des polysaccharides acides	F	Baie de Salwa, Quatar
M. binotata *	50-250	3-7	Striés, non aplatis, raides, extrémites pointues	*	Margarita Reef, Puerto Rico, et collection Collins, New York Botanical Garden

* voir Kociolek *et al.* (1987).

Les striations longitudinales des filaments, vraisemblablement illustrées ici pour la première fois en microscopie électronique, pourraient être en relation, par exemple, avec la composition chimique des filaments mêmes, de façon analogue aux striations des pédoncules mucilagineux produits par *Licmophora flabellata* (Greville) Agardh (Daniel *et al.*, 1987). La composition des sécrétions produites par les espèces de *Mastogloia* étudiées ici nous est inconnue, mais la coloration positive de la gaine et des filaments de *M. fimbriata* avec le rouge de ruthénium démontre une présence de polysaccharides acides, déjà connue chez d'autres diatomées (e.g., Cox, 1981; Daniel *et al.*, 1987). Chez *Mastogloia exigua* Lewis, Liebisch (1929) remarque que la gaine se colore avec le bleu de méthylène vital et la safranine.

La présence de striations pourrait dépendre aussi du mode de sécrétion des filaments. Cette hypothèse, formulée par Kociolek *et al.*, (1987), suggère que les filaments de *M. binotata* sont à l'origine produits sous forme de nombreuses fibres fines, qui se réunissent ensuite pour donner le filament proprement dit: par suite, les espèces où les filaments ne sont pas striés pourraient avoir un mode de sécrétion différent. Pour comparer avec un autre genre, nous avons observé au M.E.B. le pédoncule mucilagineux produit par la valve à raphé chez *Achnanthes longipes* C.A. Agardh (Fig. 15), qui montre aussi des striations longitudinales. Au niveau de la base en collerette, le pédoncule prend un aspect arborescent, dû à la présence de fibres distinctes et beaucoup plus fines que le pédoncule même. Cette morphologie s'accorde bien avec l'hypothèse de Kociolek *et al.*, (1987).

Afin de savoir s'il existe une relation entre la présence de filaments et les conditions du milieu extérieur ou le cycle vital, il serait intéressant d'étudier quelques espèces de *Mastogloia* mises en cultures pures, et soumises à diverses conditions de milieu. Il serait aussi intéressant de savoir si les filaments sont

présents chez le genre *Stigmaphora* G.C. Wallich, un genre morphologiquement proche de *Mastogloia* (Kemp & Paddock, 1986).

REMERCIEMENTS

G.N. est reconnaissant à l'A.D.I.A.F. de l'accueil amical lors du Onzième Colloque de l'Association à Douai. Nous sommes reconnaissants aux deux lecteurs anonymes de leurs conseils sur le manuscrit original. Une partie des observations a été effectuée pendant que G.N. était titulaire d'une contribution financière offerte par *Consiglio Nazionale delle Ricerche*, Italie, et ensuite, une contribution et une bourse post-doctorale offertes par *Accademia Nazionale dei Lincei*, Rome et *Royal Society*, Londres.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

COX E.J., 1981 - Mucilage tube morphology of three tube-dwelling diatoms and its diagnostic value. *J. Phycol.* 17: 72-80.

DANIEL G.F., CHAMBERLAIN A.H.L. & JONES E.B.G., 1987 - Cytochemical and electron microscopical observations on the adhesive materials of marine fouling diatoms. *Brit. Phycol. J.* 22: 101-118.

GIBSON R.A. & STEPHENS F.C., 1985 - Valve structure in *Mastogloia rostrata*, with a comparison of intercalary band internal construction in two dissimilar diatom species. *Cryptogamie, Algol.* 6: 13-24.

GRUNOW A., 1877 - New diatoms from Honduras. *Mon. Microsc. J.* 18: 165-186.

KEMP K.-D. & PADDOCK T.B.B., 1986 - Observations on the diatom genus *Stigmaphora* G.C. Wallich and two species of *Mastogloia* Thwaites ex Wm. Smith. *In* ROUND F.E. (Ed.), *Proceedings of the 9th International Diatom Symposium.* Koenigstein, Sven Koeltz, et Bristol, Biopress, pp. 405-416.

KEMP K.-D. & PADDOCK T.B.B., 1989 - Chambers within the valve of *Diadema, gen. nov. Diatom Res.* 4: 39-45.

KEMP K.-D. & PADDOCK T.B.B., 1990 - A description of two new species of the diatom genus *Mastogloia* with further observations on *M. amoyensis* and *M. gieskesii. Diatom Res.* 5: 311-323.

KOCIOLEK J.P., STOERMER E.F. & WYNNE M.J., 1987 - On the identification of *Diplochaete solitaria* Collins. *Botanica Mar.* 30: 115-120.

LIEBISCH W., 1929 - Experimentelle und kritische Untersuchungen über die Pektinmembran der Diatomeen unter besonderer Berücksichtigung der Auxosporenbildung und der Kratikularzustände. *Z. Bot.* 22: 1-65.

MARCHANT H.J., 1973 - Processing small delicate biological specimens for scanning electron microscopy. *J. microscop. (Oxford)* 97: 369-371.

NOVARINO G., 1987 - A note on the internal construction of the partectal ring of *Mastogloia lanceolata. Diatom Res.* 2: 213-217.

NOVARINO G., 1989 - An update of the taxa of the genus *Mastogloia*, with a "resemblance list" for the more recently described ones. *Diatom Res.*, 4: 319-343.

NOVARINO G., 1990 - Observations on the frustule architecture of *Mastogloia smithii*, with particular reference to the valvocopula and its integration with the valve. *Diatom Res.* 5: 373-385.

NOVARINO G., 1991 - Onservations on some new and interesting Cryptophyceae. *Nord. J. Bot.* 11: 599-611.

NOVARINO G. & MUFTAH A.R., 1991 - A description of *Mastogloia biocellata* stat. nov. from Qatari coastal waters. *Diatom Res.* 6: 337-344.

PADDOCK T.B.B. & KEMP K.-D., 1988 - A description of some new species of the genus *Mastogloia* with further observation on *M. elegans* and *M. goessii*. *Diatom Res.* 3: 109-121.

PADDOCK T.B.B. & KEMP K.-D., 1990 - An illstrated survey of the morphological features of the diatom genus *Mastogloia*. *Diatom Res.* 5: 73-103.

RICARD M., 1975 - Ultrastructure de quelques *Mastogloia* (diatomées benthiques) marines d'un lagon de Tahiti. *Protistologica* 11: 49-60.

ROSS R., COX E.J., KARAYEVA N.I., MANN D.G., PADDOCK T.B.B., SIMONSEN R. & SIMS P.A., 1979 - An amended terminology for the siliceous components of the diatom cell. *Nova Hedwigia Beih.* 64: 513-533.

SMITH W., 1856 - *A synopsis of the British Diatomaceae.* Vol. 2. London, John van Voorst, 107 p.

STEPHENS F.C. & GIBSON R.A., 1979a - Observations of loculi and associated extracellular material in several *Mastogloia* (Bacillariophyceae) species. *Rev. Algol.* n.s. 14: 21-32.

STEPHENS F.C. & GIBSON R.A., 1979b - Ultrastructural studies on some *Mastogloia* (Bacillariophyceae) species belonging to the group Ellipticae. *Botanica Mar.* 22: 499-509.

STEPHENS F.C. & GIBSON R.A., 1980a - Ultrastructural studies on some *Mastogloia* species of the group *Inaequales* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.* 16: 354-363.

STEPHENS F.C. & GIBSON R.A., 1980b - Ultrastructural studies on some *Mastogloia* (Bacillariophyceae) species belonging to the group Sulcatae. *Nova Hedwigia* 33: 219-248.

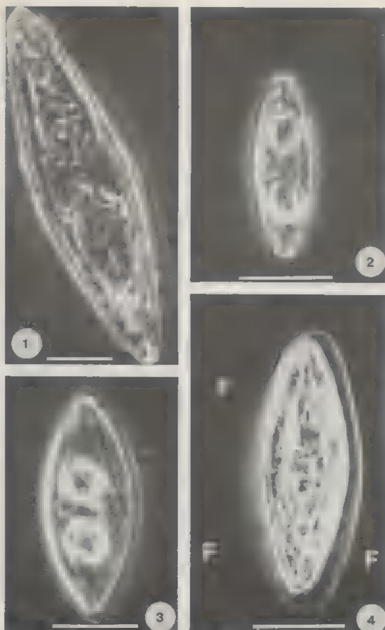
STEPHENS F.C. & GIBSON R.A., 1980c - Ultrastructural studies of some *Mastogloia* (Bacillariophyceae) species belonging to the groups Undulatae, Apiculatae, Lanceolatae and Paradoxae. *Phycologia* 19: 143-152.

STOERMER E.F., PANKRATZ H.S. & DRUM R.W., 1964 - The fine structure of *Mastogloia grevillei* Wm. Smith. *Protoplasma* 59: 1-13.

YOHN T.A. & GIBSON R.A., 1981 - Marine diatoms of the Bahamas I. *Mastogloia* Thw. *ex* Wm. Sm. species of the groups Lanceolatae and Undulatae. *Botanica Mar.* 24: 641-655.

YOHN T.A. & GIBSON R.A., 1982a - Marine diatoms of the Bahamas II. *Mastogloia* Thw. *ex* Wm. Sm. species of the groups Decussatae and Ellipticae. *Botanica Mar.* 25: 41-53.

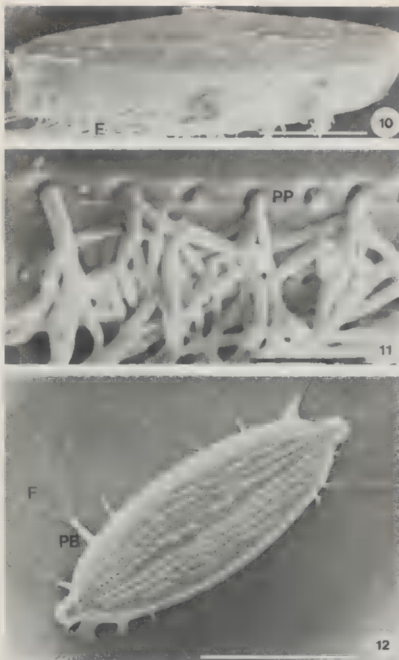
YOHN T.A. & GIBSON R.A., 1982b - Marine diatoms of the Bahamas III. *Mastogloia* Thw. *ex* Wm. Sm. species of the groups Inaequales, Lanceolatae, Sulcatae, and Undulatae. *Botanica Mar.* 25: 277-288.



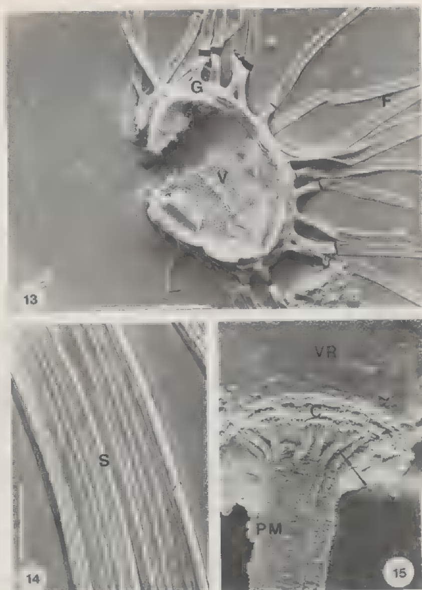
Figures 1-4. Quelques espèces de *Mastogloia*. Matériel fixé, M.P. Le trait d'échelle représente 20 µm. Fig. 1. *M. decussata*. Fig. 2. *M. paradoxa*. Fig. 3. *M. lanceolata*. Fig. 4. Cellule isolée de *M. erythraea* avec de nombreux filaments mucilagineux (F).



Figures 5-9. Quelques espèces de *Mastogloia*. Matériel fixé, M.P. Le trait d'échelle représente 20 µm (Figures 5, 6, 8, 9) ou 50 µm (Fig. 7). Fig. 5. Cellules de *M. erythraea* entourées par une gaine mucilagineuse commune (G); P = partecta. Fig. 6. Cellule isolée de *M. cribrosa* entourée par une gaine mucilagineuse (G). Fig. 7. Cellule de *M. fimbriata* entourée par une gaine (G) et des filaments mucilagineux (F) pourvus de striations (S). Fig. 8. Gaine vide de *M. fimbriata*. Fig. 9. La même, après coloration au rouge de ruthénium.



Figures 10-12. Quelques espèces de *Mastogloia*, M.E.B. Le trait d'échelle représente 10 µm (Fig. 10, 12) ou 2 µm (Fig. 11). Fig. 10. Cellule isolée de *M. erythraea*, avec des filaments mucilagineux (F) qui émergent à partir des pores partectaux de la valvocopula (PP). Fig. 11. La même, à un plus fort grossissement. Fig. 12. *Mastogloia* sp., avec des filaments ramifiés (F) pourvus d'une partie basale élargie (PB).



Figures 13-15. *Mastogloia fimbriata* et *Achnanthes longipes*, M.E.B. Le trait d'échelle représente 50 μm (Fig. 13) ou 5 μm (Fig. 14, 15). Fig. 13. *M. fimbriata* avec une gaine (G) et des filaments mucilagineux (F); V = valve. Fig. 14. Un filament de *M. fimbriata* à un plus fort grossissement, montrant des striations très fines (S). Fig. 15. *Achnanthes longipes*: détail du pédoncule mucilagineux (PM) produit par l'apex de la valve à raphé (VR); remarquer les striations longitudinales et les fibres distinctes (flèche) dans la région basale en collerette (C).

INHIBITION OF SECONDARY CAROTENOID BIOSYNTHESIS DURING DEGREENING OF *CHLORELLA FUSCA* (CHLOROCOCCALES, CHLOROPHYTA) AND IMPLICATIONS FOR GROWTH AND SURVIVAL

O.H. SAYED[1] and A.K. HEGAZY[2]

1. Department of Botany, Faculty of Science, University of Minia, Minia, Egypt.
2. Department of Botany, Faculty of Science, University of Cairo, Giza, Egypt.

ABSTRACT - Degreening of *Chlorella fusca* under conditions of nitrogen starvation involved many biochemical changes such as loss of photosynthetic pigments and oxygen evolution, as well as synthesis of secondary carotenoids. Addition of the phenylpyridazinone herbicide BASF 44521 [4-chloro-5-methoxy-2-(α, α, α-trifluoro-m-tolyl)3(2H)-pyridazinone] to the degreening medium inhibited the biosynthesis of secondary carotenoids resulting in completely bleached cells that failed to undergo subsequent regreening. Analysis of survivorship data during degreening revealed that the bleached population had low survivorship and high age-specific mortality. The results emphasized the importance of secondary carotenoids for survival under nitrogen starvation.

RÉSUMÉ - Le déverdissement de *Chlorella fusca* sous des conditions de déficit en azote entraîne de nombreuses modifications biochimiques telles que la perte des pigments photosynthétiques, la suppression de l'émission de l'oxygène et de la synthèse des caroténoïdes secondaires. L'addition de phenylpyridazinone herbicide BASF 44521 [4-chloro-5-methoxy-2-(α, α, α- trifluoro-m-tolyl)3(2H)-pyridazinone] à ce milieu de déverdissement inhibe la biosynthèse des caroténoïdes secondaires aboutissant à une décoloration totale et irréversible des cellules. Les analyses des données de survie durant le déverdissement ont révélé que les populations décolorées avaient un faible taux de survie et [redacted] fort taux de mortalité étroitement lié à l'âge des cellules. Ces résultats accentuent l'importance des caroténoïdes secondaires pour la survie dans des conditions de déficit en azote (traduit par la rédaction).

KEY WORDS : *Chlorella*, nitrogen starvation, secondary carotenoids, survival.

INTRODUCTION

Nitrogen starvation results in degreening of *Chlorella fusca* (Grimme & Porra, 1974). The resulting nitrogen-starved cells are photosynthetically inactive, possess non-appressed lamellar system, and can regreen and develop functional photosynthetic apparatus upon being transferred to a nitrate-rich medium (Grimme & Porra, 1974; Pyliotis *et al.*, 1975). The orange appearance of these

(1) To whom correspondence should be addressed.

cells was attributed to synthesis of the secondary carotenoids echinenone and canthaxanthin (Goodwin, 1980).

Phenylpyridazinone herbicides cause bleaching in plants (Sandmann *et al.*, 1981) by inhibiting carotenoid biosynthesis at the enzyme phytoene desaturase (Clarke *et al.*, 1982). We report here that the phenylpyridazinone herbicide BASF 44521 affects the biosynthesis of secondary carotenoids during degreening of *C. fusca*. Analysis of survivorship was carried out to evaluate the importance of secondary carotenoids for survival of *C. fusca* under conditions of nitrogen starvation.

MATERIALS AND METHODS

Chlorella fusca 211-15 from the Collection of Algal Cultures (Gottingen, Germany) was degreened in a nitrate-sparse medium (Grimme & Porra, 1974). The pure unformulated herbicide BASF 44521 [4-chloro-5-methoxy-2-(α, α, α-trifluoro-m-tolyl)-3-(2H)-pyridazinone] dissolved in acetone was added to the degreening medium to give concentrations in the range of 0.1-100 $\mu g\ ml^{-1}$ (the acetone concentration in both control and treated cultures was kept below 0.05%). The degreening process was allowed to proceed for six weeks under continuous illumination at 25°C and 200 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$. For regreening, nitrogen-starved cells of each culture were harvested, washed, and separately resuspended in a nitrate-rich medium (Grimme & Porra, 1974) containing the same concentration of herbicide. Regreening was allowed for 32 h under conditions similar to those used for degreening.

Cell numbers were determined using a Bright-line haemocytometer (Richert-Jung, USA). Photosynthetic oxygen evolution was measured using an oxygen electrode (Rank Brothers, UK) with 5.0 ml of culture at 25°C in the electrode chamber and 800 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$. Total chlorophyll and carotenoid contents were determined (Metzner *et al.*, 1965), secondary carotenoids were separated at the end of degreening (Chapman, 1988) and absorption spectra were recorded by using a Lumbda-2 UV/VIS spectrophotometer (Perkin-Elmer, USA). Survisorship was assessed during degreening (Pielou, 1977; Hegazy, 1990).

RESULTS

Degreened control cells appeared orange, had subtantially reduced chlorophyll and carotenoid contents, Chl a: Chl b ratio, and virtually no oxygen evolving capability (Fig. 1a-e). Absorption spectroscopy revealed the presence of new peaks at 456 and 467 nm (Fig. 2). Treatment with BASF 44521 up to a concentration of 10 $\mu g\ ml^{-1}$ did not affect cell number (Fig. 1a), resulted in further loss of chlorophylls and carotenoids, and reduction of the rate of oxygen evolution (Fig. 1b-e). Cells treated with BASF 44521 up to concentration of 10 $\mu g\ ml^{-1}$ also had new peaks at 456 and 467 nm, whereas those treated with 100 $\mu g\ ml^{-1}$ appeared bleached with no oxygen evolving capability (Fig. 1b-e), and had no specific absorption peaks (Fig. 2).

Upon regreening control cells, cell division commenced after 24 h leading to a 23-fold increase in cell number (Fig. 1f). At the end of regreening, control cells had chlorophyll and carotenoid contents, Chl a: Chl b ratio, and a rate of oxygen evolution comparable to those of normal green cells. At a concentration of 10 $\mu g\ ml^{-1}$ BASF 44521 slightly affected cell division, the regreening-induced rise of chlorophyll and carotenoid contents, Chl a: Chl b ratio, and the

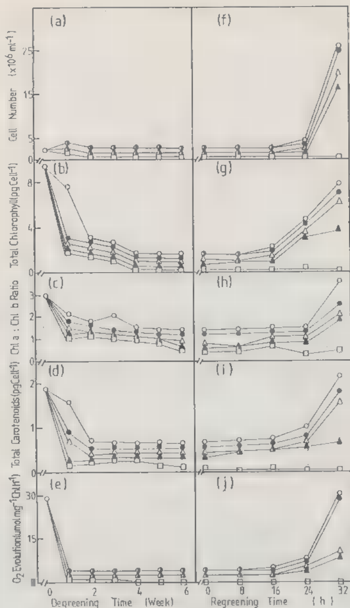


Fig. 1. - Effect of BASF 44521 on growth (cell number), pigment content, and oxygen evolution during degreening (a-e) and regreening (f-j) of *C. fusca*, (o) control, (●) 0.1, (Δ) 1.0, (▲) 10, and (□) 100 μg ml^{-1} BASF 44521 (± SE, n = 3).

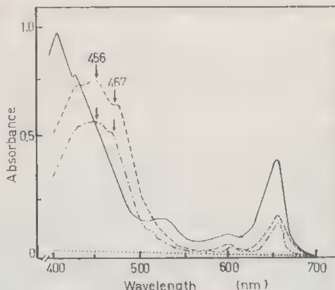


Fig. 2. - Absorption spectra of pigment extracts of green control (—), orange control (- -) *C. fusca* cells, and of cells degreened in the presence of 1.0 $\mu g\ ml^{-1}$ (-.-) or 100 $\mu g\ ml^{-1}$ (.....) BASF 44521. Arrows denote new absorption peaks at 456 467 nm.

restoration of oxygen evolution (Fig. 1f-j). It is important to emphasize that cells treated at 100 $\mu g\ ml^{-1}$ BASF 44521 did not increase in number, did not regreen, and failed to restore oxygen evolution.

Survivorship revealed that herbicide-treated degreened populations had fairly stable survival (l_x) for two weeks followed by steep decline with a uniform decrease in number. The average mortality rate (q_x) indicated that treated degreened cells had high age-specific mortality (Table I).

DISCUSSION

The observed reduced chlorophyll and carotenoid contents, diminished oxygen evolution, and appearance of the secondary carotenoids echinenone and canthaxanthin indicated by the peaks at 456 and 467 nm in degreening nitrogen-starved *C. fusca* have previously been reported (Grimme & Porra, 1974; Goodwin, 1980). These control degreened cells could attain stable survival and low mortality, and could regreen and restore oxygen evolution. Addition of BASF 44521 caused acceleration of the loss of pigments during degreening. At the high concentration of 100 $\mu g\ ml^{-1}$, BASF 44521 caused complete bleaching and inhibition of secondary carotenoid biosynthesis. The bleached cells showed a peak at 289 nm indicative of the accumulation of phytoene (Kummel & Grimme, 1974), had declined survivorship and high mortality, and could neither regreen nor restore oxygen evolution.

Table I. - Life table of *Chlorella fusca* during degreening in the absence of BASF 44521. X = age in days, X' = first day of the following interval, X-X' = age interval (days), D_x = length of interval (days) N_x = cells surviving to X, l_x = probability of a cell at age zero will survive to day. X, q_x = average mortality rate per day.

Treatment	X-X'	D_x	N_x ($x10^4$)	l_x	q_x ($x10_{-3}$)
Control	00-07	7	230	1.00	0.62
	07-14	7	220	0.96	0.58
	14-21	7	211	0.92	0.54
	21-28	7	203	0.88	0.98
	28-35	7	201	0.87	0.07
	35-42	7	200	0.87	0.00
BASF 44521 ($100 \mu g ml^{-1}$)	00-07	7	115	1.00	0.86
	07-14	7	114	0.99	4.88
	14-21	7	75	0.65	8.95
	21-28	7	58	0.50	10.59
	28-35	7	15	0.13	1.91
	35-42	7	13	0.11	0.00

It is conceivable that the biochemical changes taking place during degreening are protective measures in response to the stress imposed by nutritional imbalance under nitrogen starvation. The herbicide BASF 44521 has previously been reported to inhibit carotenogenesis by inhibiting phytoene desaturation (Klarke *et al.*, 1982). Data presented here indicated that BASF 44521 inhibited the synthesis of secondary carotenoids during degreening of *C. fusca*. Inhibition of secondary carotenoid biosynthesis had serious implications for survival of *C. fusca* under nitrogen starvation. Such coloured compounds are capable of photoprotecting the photosynthetic apparatus of degreened cells. It is, therefore concluded that the synthesis of secondary carotenoids during degreening is an important aspect of a protective strategy adopted by *C. fusca* for survival under conditions of nitrogen starvation.

REFERENCES

CHAPMAN D.J., 1988 - Formation and analysis of secondary carotenoids. *In* C.S. LOBBAN, J.C. CHAPMAN & B.P. KREMER, *Experimental Phycology*. Cambridge, Cambridge University Press.

CLARK I.E., BRAMLEY P.M., SANDMAN G. & BOGER P., 1982 - Herbicide action on carotenogenesis in photosynthetic cell-free system. *In* J.F.G.M. WINTERMANS & P.J.C. KUIPER, *Biochemistry and Metabolism of Plant Lipids*. Elsevier Biomedical Press.

GOODWIN T.C., 1980 - The Biochemistry of Carotenoids. London, Chapman and Hall.

GRIMME L.H. & PORRA R.J., 1974 - The regreening of nitrogen-deficient *Chlorella fusca*. 1. The development of photosynthetic activity during the synchronous growth of nitrogen-deficient *Chlorella*. *Arch. Microbiol.* 99: 173-179.

HEGAZY A.K., 1990 - Population ecology and implications for conservation of *Cleome droserifolia*: a threatened xerophyte. *J. Arid Environ.* 19: 269-282.

KUMMEL H.W. & GRIMME L.H., 1974 - The inhibition of carotenoid biosynthesis in green algae by Sandoz H 6706: Accumulation of phytoene and phytophloene in *Chlorella fusca*. *Z. Naturf.* 30(c): 333-336.

METZNER H., RAW H. & SENGER H., 1965 - Untersuchungen zur synchronisierbarkeit einzelner pigmentmangel mutaten von *Chlorella*. *Planta* 65: 186-196.

PIELOU E.C., 1977 - Mathematical Ecology. New York, John Willey.

PYLIOTIS N.A., GOODCHILD D.J. & GRIMME L.H., 1975 - The regreening of nitrogen-deficient *Chlorella fusca*. II. Structural changes during regreening. *Arch. Microbiol.* 103: 259-270.

SANDMAN G., KUNERT K.J. & BOGER P., 1981 - Bleaching activity and chemical construction of phenylpyridazinones. *Pesticide Biochem. Physiol.* 15: 286-293.

INFLUENCE DE L'AZOTE ET DU PHOSPHORE SUR LA CROISSANCE ET LA TOXICITÉ DE *PROROCENTRUM LIMA* (EHRENBERG) DODGE

Martine MORLAIX et Patrick LASSUS

IFREMER, Centre de Nantes, DEL/PN, B.P. n° 1049,
44037 Nantes Cedex 01, France.

RÉSUMÉ - Peu d'études ont été réalisées sur l'influence des nutriments sur la croissance et la toxicité de dinoflagellés producteurs de poisons diarrhéiques (Diarrhetic Shellfish Poison = DSP). Des résultats préliminaires sont présentés ici en ce qui concerne l'effet de concentrations croissantes d'azote inorganique et de phosphore organique sur le taux de division et la production toxinique de *Prorocentrum lima* (souche espagnole PL2V). L'azote a une influence positive sur la croissance de cette microalgue jusqu'à une valeur seuil de $880 \mu M.l^{-1}$. Au-delà de ce seuil, le taux de division diminue. Par contre, l'effet sur la toxicité n'est pas significatif, les concentrations en acide okadaïque et DTX1 restant relativement faibles (4.8 ± 0.5 pg.cell.$^{-1}$) et stables. Le phosphore agit intégralement sur le taux de division et il y a une relation inverse entre ce dernier et le contenu toxinique cellulaire.

ABSTRACT - Very few attempts have been made [redacted] order to investigate the role of nutrients on cellular growth and toxin production in dinoflagellates associated with DSP (Diarrhetic Shellfish Poison). Some preliminary results are presented here, aiming at a better knowledge of inorganic nitrogen and organic phosphorus effects upon division rate and toxin content of *Prorocentrum lima* (PL2V spanish strain). Nitrogen have [redacted] positive effect on growth rate, up to a threshold value of $880 \mu M.l^{-1}$. Above this threshold the growth rate decreases. There is no effect on toxin content since okadaic acid and DTX1 cell contents remain low (4.8 ± 0.5 pg.cell.$^{-1}$) and steady. Phosphorus effect upon division rate follows a non-linear relationship, whereas cellular toxic content is inversely proportional to growth rate.

MOTS CLÉS : *Prorocentrum lima*, acide okadaïque, DTX1, taux de croissance, toxicité, nutriments.

INTRODUCTION

Prorocentrum lima (Ehrenberg) Dodge est un dinoflagellé benthique faisant partie des biotopes coralligènes associés à la ciguatera (Yasumoto *et al.*, 1980). Bien qu'il ne soit pas connu pour produire des phénomènes d'eaux colorées, il est associé - avec *Dinophysis spp.* - depuis 1982 à des épisodes de contamination diarrhéique des coquillages (DSP: diarrheic shellfish poison) sur les côtes espagnoles (Lee *et al.*, 1989; Bravo, 1991) et probablement à des phénomènes de bioaccumulation dans la chair de poissons tropicaux (Gamboa *et al.*, 1990; Frémy *et al.*, in press).

En effet, *P. lima* est observé principalement dans les régions subtropicales pacifiques (Yasumoto *et al.*, 1980; Bomber *et al.*, 1985; Carlson *et*

al., 1984) et les toxines qu'il produit, d'abord identifiées sous la dénomination PLT I, II et III seraient en fait essentiellement de l'acide okadaïque (fraction PLTII, Murakami *et al.*, 1982) de la DTX1 et une autre toxine appelée Prorocentrolide (Yasumoto, 1990).

En ce qui concerne les côtes françaises, c'est une espèce qui a été recensée dans le plancton en 1986 à Ouessant (Lassus, 1988) avec une concentration de 6400 $cell.l^{-1}$, et en coïncidence avec une contamination DSP de moules sur le secteur étudié. Une bioaccumulation directe d'acide okadaïque chez les bivalves filtreurs peut être induite par voie alimentaire (Houvenaghel *et al.*, 1991).

Afin de prévenir la contamination des mollusques, il importe donc de mieux connaitre les conditions de milieu pouvant modifier le rythme de croissance et la production de toxine chez cette espèce. En effet, chez plusieurs dinoflagellés toxiques, ces paramètres sont influencés par des facteurs environnementaux ou physiologiques (Hall, 1982; Boyer *et al.*, 1985). Pour ce qui est de *P. Lima*, Morton & Norris (1989) ont étudié l'influence des conditions de cultures (salinité, température, lumière) sur le taux de division, et, en 1991 Schoemann *et al.*, ont travaillé sur le rôle de la matière organique sur la croissance de cette espèce. Cependant, jusqu'à présent, très peu d'auteurs traitent de l'influence des facteurs physiques, chimiques ou biologiques sur la toxicité de *P. lima*, excepté Tomas & Baden (1991) qui ont observé l'impact de diverses sources et concentrations en phosphate sur la production toxinique et le développement d'une souche tropicale de ce dinoflagellé.

Compte tenu de la spécificité propre au développement des espèces tempérées de *Prorocentrum*, nous avons étudié l'effet de concentration croissantes d'azote minéral et de phosphore organique sur le taux de division et la toxicité d'une souche de *P. lima* d'origine espagnole.

MÉTHODES

La souche de *P. lima* utilisée (PL2V) a été isolée au large de Vigo (Espagne) en 1987 (fig. 1): depuis, la culture est maintenue au laboratoire à 20°C, avec un cycle jour/nuit 12/12 et un éclairement de 24μmole $photon.m^{-2}s^{-1}$, en ballons de 2 ou 0.5 litres remplis pour moitié de milieu "K" (Keller & Guillard, 1985), réalisé à partir d'eau de mer naturelle filtrée sur $0.22\mu m$.

Pour chaque expérience, deux réplicats par test ont été réalisés et les cultures n'ont pas été remises en suspension jusqu'à récolte des cellules. Des tubes à essai ont été inoculés avec une culture de 48 jours, à raison de 500 $cell.ml^{-1}$: ils contiennent 15 ml d'eau de mer filtrée et autoclavée de salinité 35.5 ± 0.5‰ et enrichie en milieu "K" modifié. Pour réaliser les expériences, les sources initiales d'azote et de phosphore du milieu "K" normal ($NaNO_3$, NH_4Cl et Na_2 Glycérophosphate) ont été éliminées respectivement pour chaque composé testé. Par la suite, les nitrates ont été ajoutés sous forme de $NaNO_3$ aux concentrations de $0\mu M.l^{-1}$, $88\mu M.l^{-1}$, $880\mu M.l^{-1}$, $1760\mu M.l^{-1}$ et $2640\mu M.l^{-1}$, qui représentent respectivement 0%, 10%, 100%, 200% et 300% de la concentration normale de nitrates dans le milieu "K". De même, et selon les tests, nous avons ajouté $0\mu M.l^{-1}$, $5\mu M.l^{-1}$, $10\mu M.l^{-1}$, $15\mu M.l^{-1}$ et $20\mu M.l^{-1}$ de Na_2Glycérophosphate qui représentent respectivement 0%, 50%, 100%, 150% et 200% de la concentration en phosphates du milieu "K". Les tubes contenant 100% de phosphates font office de témoins; en effet, leur composition en azote et phosphore correspond à celle d'un milieu "K" normal. Pour ces



Figure 1. - Microphotographie photonique d'une cellule vivante de *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) Dodge en culture. Echelle: 15mm = 10μm - Photo M. Bardouil, IFREMER Nantes.

expérimentations - une avec nitrates, une avec phosphates et une normale pour les témoins - la croissance s'est déroulé à 20°C, selon les mêmes modalités que celles précédemment décrites.

Après 15 jours de développement, les cellules sont réinoculées dans le même milieu expérimental et dans des conditions similaires. Cette procédure a été répétée trois fois afin d'éviter toute influence du contenu initial en azote et phosphore des cellules sur les vitesses d'assimilation des nutriments. Les différentes réinoculations correspondent donc à t_0, t_0 + 15, t_0 + 30, t_0 + 45 = temps de début d'expérimentation. Un prélèvement a alors été fait afin de vérifier le nombre de cellules présentes dans chaque tube.

Les expérimentations ont été arrêtées à 30 jours, ce qui correspond à la fin de la phase exponentielle chez cette espèce à taux de croissance faible. Le taux de croissance en 30 jours a été calculé par la formule de Fukasawa *et al.* (1980):

$$\mu = \frac{LnC_1 - \ln C_0}{(T_1 - T_0)\ln_2}$$

Après comptage sous microscope, à la cellule de Nageotte, le contenu des différents tubes a alors été récolté par filtration sous vide sur un filtre nuclépore de 5μm. Le filtre avec les cellules est conservé dans du méthanol et le tout congelé à -80°C. Par la suite, les cellules sont éclatées par action des

ultrasons (Sonix Vibracell); la solution ainsi obtenue est alors soumise à une extraction liquide/liquide: après lavage à l'hexane, les cellules sont extraites par le chloroforme.

L'analyse chimique de la toxicité a été effectuée par CLHP selon la méthode de Lee *et al.* (1987), c'est-à-dire par couplage des toxines avec un réactif fluorescent, le 9-anthryldiazométhane (ADAM) et détection en fluorescence.

RÉSULTATS

Les cultures sans source d'azote rajoutée dans le milieu présentent un taux de division relativement bas (0.032 div.j^{-1}) environ 2.5 à 3 fois plus faible que celui des essais avec source d'azote (fig. 2a). En revanche, le taux de division des cultures enrichies en azote minéral augmente jusqu'à une valeur maximale de 0.092 div.j^{-1} pour 100% de $NaNO_3$. Si les quantités de nitrates sont doublées ou triplées, cette valeur chute à 0.07 div.j^{-1} dans les deux cas. On constate donc une influence directe de la concentration en azote minéral sur la croissance, jusqu'à une valeur seuil de 880μM.l^{-1}.

En ce qui concerne la toxicité, exprimée en picogrammes d'acide okadaïque par cellule, les valeurs varient peu autour d'une moyenne égale à: 4.8 $\pm$ 0.5 pg.$cell^{-1}$, les différences observées entre les concentrations d'azote testées n'étant pas significatives (fig. 2a).

Les cultures enrichies à 5μM.l^{-1} et 10μM.l^{-1} de Na_2 Glycérophosphate présentent les taux de division les plus faibles soit environ 0.07 div.j^{-1}. Ce sont les algues cultivées à 0μM.l^{-1}, 15μM.l^{-1} et 20μM.l^{-1} de phosphates qui ont les taux les plus élevés soit 0.09 div.j^{-1}; nous obtenons donc une courbe de type "V" avec un minimum (fig. 2b). Ces résultats montrent une action moins marquée qu'avec l'azote du phosphore organique sur la division cellulaire. Néanmoins, la toxicité la plus forte est détectée dans les cultures ayant le taux de croissance le plus bas: 0.066 div.j^{-1} ce qui correspond à la composition en phosphate d'un milieu "K" "normal", dans ce cas, la courbe est de type "V" inversé avec un maximum (fig. 2b).

Pour chacune de ces expériences, nous avons pu observer lors de l'analyse en CLHP la présence d'une seconde toxine diarrhéique: la DTX1 (fig. 3), dérivé méthylé de l'acide okadaïque normalement présente dans cette souche (Lee *et al.*, 1989). Toutefois, la DTX1 ne représente que 10 à 15% du total des toxines (fig. 4a et 4b), et ce, quelles que soient les concentrations en azote et phosphore testées. Il semble donc, dans ce cas précis, que la production d'acide okadaïque et de DTX1 suivent les mêmes variations quantitatives, et ce, indépendamment des nutriments testés.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Quelques espèces de dinoflagellés peuvent stoker l'azote et le phosphore sous forme de réserves intracellulaires afin de l'utiliser lors d'une carence dans le milieu (Cembella *et al.*, 1984. Dortch *et al.*, 1984). D'après nos résultats, *P. lima* agirait de la même façon avec l'azote puisque même après trois inoculations successives dans un milieu sans nitrate, nous observons un taux de division faible mais significatif dans les cultures (0.03 div.j^{-1}). Par ailleurs, il semblerait que des concentrations croissantes de nitrates aient un effet sur les taux de division avec une valeur seuil de 880μM.l^{-1} au-delà de laquelle la croissance

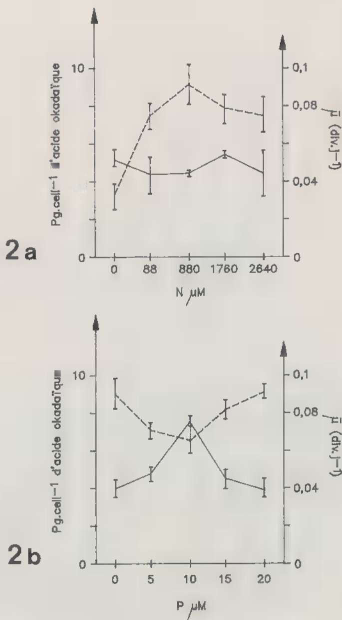
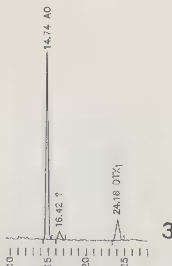
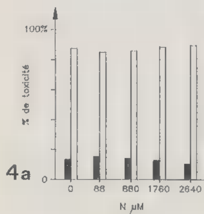


Figure 2. - Influence de diverses concentrations en azote (2a) etphosphore (2b) sur le taux de division (- - - -) et la toxicité (———) de *P. lima*.





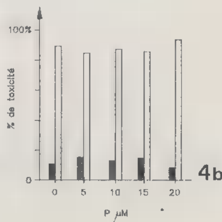


Figure 3. - Chromatogramme de l'analyse en CLHP de *P. lima*. t = temps d'élution en minutes.

Figure 4. - Pourcentages relatifs d'acide okadaique (□) et de DTX1 (■) dans les cultures de *P. lima* en fonction des concentrations en azote (4a) et phosphore (4b).

diminue; l'influence de ces mêmes concentrations sur la toxicité globale des cultures semble moindre, les valeurs analysées s'échelonnent entre 4.35 et 5.47 pg.cell^{-1}.

Nous observons ici une relation inversement proportionnelle entre la toxicité détectée et le taux de division des cellules: plus la culture se développe rapidement et plus la quantité d'acide okadaïque présente est faible. De plus, il est intéressant de noter que lorsque les concentrations en phosphates sont égales à celles du milieu "K" "normal" (100%), il faut atteindre $880 \mu M.l^{-1}$ de nitrates - soit la teneur du milieu "normal" - pour obtenir une toxicité de $4.42\ pg.cell^{-1}$. Dans ce cas, et bien que la teneur totale en azote soit plus faible que celle du milieu "K" (pas de NH_4Cl), la toxicité est plus faible que celle obtenue avec une teneur en azote total identique à celle du milieu "K" "normal" (100%) mais avec une teneur en Na_2Glycérophosphate de $10 \mu M.l^{-1}$, soit $7.67\ pg.cell^{-1}$. Inversement, le taux de division est plus faible: $0.092\ div.j^{-1}$ comparé à $0.066\ div.j^{-1}$ respectivement. Les conditions expérimentales font que la différence entre ces deux milieux tient uniquement à la présence de chlorure d'ammonium dans l'expérience sur le phosphore.

Le ratio N/P du milieu "K" est de 93/1 soit un excès d'azote par rapport aux phosphates; en le ramenant à 88/1 par suppression du chlorure d'ammonium, nous observons une augmentation du taux de croissance de la souche, mais, dans le même temps, une diminution de la toxicité. Les nitrates ont donc un rôle primordial sur le taux de division de *P. lima*. Cependant, cette influence positive de l'azote inorganique n'est valable que dans une gamme de concentrations comprises entre 0 et $880 \mu M.l^{-1}$.

Quelle que soit l'expérience, nous observons une toxicité faible ou moyenne de la souche. Le seul facteur testé entraînant une augmentation significative de la toxicité est la diminution du taux de croissance en présence de phosphore organique. Ce phénomène serait sans doute davantage à relier avec la source d'azote supplémentaire présente dans le milieu sous forme de chlorure d'ammonium.

Ces observations vont à l'encontre des résultats donnés par certains auteurs (Anderson *et al.*, 1990; Boyer *et al.*, 1985, 1987) sur l'effet d'une carence en phosphore sur la toxicité des dinoflagellés: une carence en azote entraînerait une baisse très sensible de la toxicité et une carence en phosphore une augmentation dramatique de cette même toxicité. Toutefois, nous pouvons mettre en évidence une relation: taux de croissance faible - toxicité élevée particulièrement nette dans l'expérimentation sur le phosphore, mais non significative dans le test sur l'azote.

Bien que Tomas & Baden (1991) aient travaillé à 26°C sur une souche tropicale clonale de *P. lima* cultivée en jarres de verre, il est intéressant de comparer leurs résultats aux nôtres dans la mesure où leur milieu de culture est identique. Ces auteurs trouvent des contenus toxiniques cellulaires comparables ($7\ pg.cell^{-1}$ contre $5\ pg.cell^{-1}$ pour la souche espagnole) en présence de phosphore inorganique, avec des variations non significatives [redacted] cours de croissance. En revanche, les teneurs sont nettement plus importantes (11 à 13 $pg.cell^{-1}$) avec du glycérophosphate et pour des taux de croissance moins élevés.

Il semblerait donc que d'une part l'origine de la culture ait une incidence non négligeable sur le contenu toxinique, et d'autre part l'effet positif d'une réduction du taux de division sur la production de toxine ne soit vérifiable qu'en réponse à une carence en phosphate inorganique.

REMERCIEMENTS: Nous remercions le Dr Fraga (Instituto español de Oceanografia - Vigo - Espagne) pour nous avoir aimablement donné un échantillon de la souche PL2V.

BIBLIOGRAPHIE

ANDERSON D.M, KULLIS D.M., SULLIVAN J.J., HALL S. & LEE C., 1990 - Dynamics and physiology of saxitoxin production by the dinoflagellates. *Alexandrium spp. Mar Biol.* 104: 511-524.

BOMBER J.W., NORRIS D.R. & MITCHELL L.E., 1985 - Benthic dinoflagellates associated with ciguatera from the Florida keys. II Temporal, spatial and substrate heterogeneity of *Prorocentrum lima. In* ANDERSON D.M., WHITE A.W., BADEN D.G. (Eds), *Toxic dinoflagellates.* Elsevier Science, Publ., Co., pp. 281-286.

BOYER G.L., SULLIVAN J.J., ANDERSEN R.J., HARRISON P.J. & TAYLOR F.J.R., 1987 - Effects of nutrients limitation on toxin production and composition in the marine dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis. Mar. Biol.* 96: 123-128.

BRAVO I., 1991 - Results of preliminary studies in the field and in culture of the toxic dinoflagellate *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) Dodge. *In* RIOM Tomes 101 à 104, AUBERT M. & AUBERT J. (Eds.), pp. 189-196.

CARLSON R.D., MOREY-GAINES G., TINDALL D.R. & RICKEY R.W., 1984 - Ecology of Toxic Dinoflagellates from the Caribbean Sea. Effects of Macroalgal Extracts on Growth in Culture. *In* RAGELIS E.P. (Ed.), *Seafood Toxins.* American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 271-287.

CEMBELLA A.D., ANTIA N.J. & HARRISON P.J., 1984 - The utilization of inorganic and organic phosphorus compounds as nutrients by eukaryotic microalgae: a multidisciplinary perspective: Part 1. *Crit. Rev. Microbiol.* 10: 317-391.

DORTCH Q., CLAYTON J.R., THORESEN S.S. & AHMED S.I., 1984 - Species differences in accumulation of nitrogen pools in phytoplankton. *Mar. Biol.* 81: 237-250.

FREMY J.M., GLEIZES E. & PARK D., in press - Applications récentes du dosage de l'acide okadaique aux produits de la pêche. *Toxicorama.*

FUKASAWA N., ISHIMARU T., TAKAHASHI M. & FUJITA Y., 1980 - A mechanism of "red tide" formation. I. Growth rate estimate by DCMU-induced fluorescence increase. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 3: 217-222.

GAMBOA P., PARK D. & FREMY J.M., 1990 - Extraction and purification of toxic fractions from Barracuda implicated in ciguatera poisoning. *Proceeding of Symposium on Food Contamination*, Nov. 4-15 1990, CAIRO, Egypt.

HALL S., 1982 - *Toxins and toxicity of Protogonyaulax from the northeast Pacific.* Ph. D. thesis, University of Alaska. 196p.

HOUVENAGHEL G.T., SENECHAL L., SOHET K. & SZALIES J.-M., 1991 - Preliminary results of the experimental DSP intoxication and detoxication in blue mussels *(Mytilus edulis)* exposed to *Prorocentrum lima* cells. Fifth international conference of toxic marine phytoplankton, Newport, R.I., 60. (Abstract)

KELLER M.D. & GUILLARD R.R.L., 1985 - Factors significant to marine dinoflagellate culture. *In* ANDERSON D.M., WHITE A.W. & BADEN D.G. (Eds), *Toxic Dinoflagellates*, Elsevier, New York, pp. 113-116.

LASSUS P., 1988 - Plancton toxique et plancton d'eaux rouges sur les côtes européennes. *S.D.P. IFREMER, centre de Brest.* 111 p.

LEE J.S., YANAGI T., KENMA R. & YASUMOTO T., 1987 - FLuorometric Determination of Diarrhetic Shellfish Toxins by High-Performance Liquid Chromatography. *Agric. Biol. Chem.*, 51(3): 877-881.

LEE J.S., IGARASHI T., DAHL E., HOVGAARD P. & YASUMOTO T., 1989 - Determination of diarrhetic shellfish toxins in various dinoflagellate species. *J. Appl. Phycol.* 1: 147-152.

MORTON S.L. & NORRIS D.R., 1990 - Role of temperature, salinity, and light on the seasonality of *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) Dodge. *In* GRANELI E., SUNDSTROM B., EDLER L., & ANDERSON D.M. (Eds.), *Toxic Marine Phytoplancton*. Elsevier, New York, pp. 205-221.

MURAKAMI Y., OSHIMA Y. & YASUMOTO T., 1982 - Identification of Okadaic Acid as a Toxic Component of a Marine Dinoflagellate *Prorocentrum lima*. *Bull. Japan. Soc. Sci. fish.*, 48(1): 69-72.

SCHOEMANN V., SOHET K. & HOUVENAGHEL G., in press - Influence of organic matter on the growth of a toxic dinoflagellate, *Prorocentrum lima*. *Fifth international conference on toxic marine phytoplankton*, Newport, R.I.

TOMAS C.R. & BADEN D.G., in press - The influence of phosphorus source on the growth and cellular toxin content of the benthic dinoflagellate *Prorocentrum lima*. *Fifth international conference on toxin marine phytoplankton*, Newport, R.I.

YASUMOTO T., OSHIMA Y. MURAKAMI Y., NAKAJIMA I., BAGNIS R. & FUKUYO Y., 1980 - Toxicity of Benthic Dinoflagellates Found in Coral Reef. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 46 (3): 327-331.

YASUMOTO T., 1990 - Marine microorganisms toxins - an overview. *In* GRANELI E., SUNDSTROM B., EDLER L. & ANDERSON D.M. (Eds), *Toxic Marine Phytoplancton*. Newport, R.I.

YASUMOTO T., OSHIMA Y., MURAKAMI Y., NAKAJIMA I., BAGNIS R. & FUKUYO Y., 1980 - Toxicity of Benthic Dinoflagellates Found in Coral Reef. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 46 (3): 327-331.

YASUMOTO T., 1990 - Marine microorganisms toxins - an overview. *In* GRANELI E., SUNDSTROM B., EDLER L. & ANDERSON D.M. (Eds), *Toxic Marine Phytoplancton*. Elsevier, New York, pp. 3-8.

Cryptogamie, Algol. 1992, 13 (3): 197-224

LE TRANSPORT A LONGUE DISTANCE CHEZ LES GRANDES ALGUES

- Acquis et perspectives[1] -

Michel PENOT

Laboratoire de Physiologie Végétale, 6 avenue V. Le Gorgeu,
29287 Brest Cedex (France)

RÉSUMÉ - Après un rappel des résultats acquis dans le domaine de la physiologie des transports à longue distance chez les grandes algues brunes (arguments en faveur de l'existence de ce transport d'ordre morphologique, cytologique, physiologique, théorique; approches expérimentales indirectes - structures et ultrastructure de l'appareil conducteur, bilan de C et N, analyse des exsudats -; approches directes) sont analysées les caractéristiques du transport à longue distance (analyse des exsudats; transfert spécifique de masse et vitesse des déplacements; transport orienté depuis une zone donneuse vers des zones réceptrices). Les composantes du transport sont ensuite distinguées: voies conductrices (courant de masse ou diffusion "activée"); nature des voies suivies (symplasmiques ou apoplastiques) et mécanismes fins impliqués dans la charge et décharge des voies conductrices. Les transports à longue distance chez les algues et les végétaux supérieurs présentent de nombreuses analogies. Pour avoir une meilleure compréhension de cet aspect si particulier de la physiologie des grandes algues, des recherches complémentaires mériteraient d'être poursuivies (relations ultrastructurales, cytochimie fine, biochimie des tubes criblés, nature des effecteurs capables de réguler le flux...).

ABSTRACT - Following a review of the results achieved relative to the physiology of long-distance transport in large brown algae (arguments favouring the existence of translocation - *i. e.* morphological, cytological, physiological or theoretical arguments -; indirect experimental approaches - anatomy and fine structure of the sieve tube system, C and N balance, exudate analyses -; direct approaches) the characteristics of translocation are considered (exudate analyses; specific mass transfer and translocation velocities; directionality of transport from source to sink). The components of long-distance transport are then distinguished: transport pathways (mass stream or "activated" diffusion); types of pathways (symplastic or apoplastic) and finer mechanism implied in the charging or discharging of the translocation pathways. Long distance transports in algae and vascular plants show many analogies. For a better understanding of this aspect so peculiar to the physiology of large seaweeds, further investigations ought to be undertaken (ultrastructural relationships, detailed cytochemistry, biochemistry of sieve tubes, nature of flux-regulating effectors...).

MOTS CLÉS : transport à longue distance, caractéristiques, composantes, mécanismes fins, régulation, voies (apoplaste, symplasme).

(1) Journées phycologiques (mars 1992). Conférence dédiée à la mémoire de Monsieur le Professeur Alexis MOYSE.

INTRODUCTION

L'étude de la physiologie des transports à longue distance chez les algues est restée dans l'ombre pendant de nombreuses années, en fait pour des raisons faciles à comprendre,

(1) **économiques et/ou pratiques:** moindre intérêt pour les algues que pour les végétaux supérieurs; collecte moins facile aussi du matériel; plus grandes difficultés de culture expérimentale;

(2) **théoriques:** négation de l'existence d'un transport à longue distance, du fait que toutes les parties sont photosynthétiquement actives donc *a priori* autotrophes, du fait aussi de l'immersion de ces végétaux, donc de leur aptitude à absorber les éléments minéraux par toutes les parties du thalle;

(3) voire même **expérimentales:** échecs des premières approches expérimentales, conséquences d'un mauvais choix des techniques et des traceurs.

En fait on peut aujourd'hui distinguer 3 à 4 périodes quant à l'évolution de cette approche:

Avant 1965: les études portent sur l'anatomie et la cytologie de l'appareil conducteur (voir Schmitz, 1981, 1990 et les références incluses: Wille, 1897; Sykes, 1908; Killian, 1911; Sauvageau, 1918; Smith, 1939; Ziegler, 1963).

De 1965 à 1982: c'est une période de recherches intenses et fructueuses. Quelques groupes investissent leurs efforts en ce domaine:
- début avec les travaux de l'américain Parker (1965),
- un groupe allemand avec Willenbrink, Luning, Schmitz et Kremer,
- un groupe en France avec Penot et collaborateurs (Floc'h, Pellegrini, Diouris),
- quelques travaux de canadiens: Buggeln, Lobban pour la physiologie, Srivastava pour l'ultrastructure.

Ceci va conduire à la parution de 4 mises au point quasi simultanées: Schmitz (1981), Floc'h (1982), Buggeln (1983) et Raven (1984).

La 3ème période, de 1983 à 1992: est une période moins riche en acquisitions nouvelles, peut-être en raison des difficultés croissantes.

Je vais donc essayer d'évoquer les acquis et soulever les perspectives. Ceci m'amène aussi à dire que cette question ne peut être abordée aujourd'hui qu'en intégrant les acquis obtenus parallèlement chez les végétaux supérieurs.

I. LES TRANSPORTS A LONGUE DISTANCE - LES ACQUIS -

1. Quelles sont les bases en faveur de l'existence d'un transport à longue distance ?

Trois types d'arguments peuvent militer en faveur d'un transport à longue distance chez les algues:

- des arguments **d'ordre morphologique** reposant sur des différenciations morphologiques auxquelles correspond souvent une spécialisation fonctionnelle

(lame, stipe, crampon) prenant aussi en considération l'existence d'une pseudonervure (*Alaria*, *Fucus*, etc.);

- des raisons **cytologiques** complémentaires des arguments précédents mettant en évidence des différenciations tissulaires et cellulaires allant dans le sens de la mise en place d'un appareil conducteur présentant beaucoup de points de convergence avec celui des végétaux supérieurs;

- des arguments **physiologiques** liés à l'existence de gradients photosynthétiques (dépendant du gradient lumineux) que ce soit chez les Characées (Andrews *et al.*, 1984) ou chez le *Macrocystis*. Le gradient photosynthétique peut aussi être lié à la nature des tissus: le méristoderme serait photosynthétiquement 3 à 5 fois plus actif que les cellules du cortex chez les laminaires; des arguments tels que les accumulations de substances organiques, d'ions, laissant supposer pour ces derniers, soit une absorption préférentielle, soit une redistribution interne avec mise en réserve;

- et enfin pour des raisons **théoriques**: n'est-il pas impératif d'envisager, à partir du moment où un organisme devient pluri-cellulaire, qu'il y ait échange d'informations moléculaires permettant une expression morphogénétique harmonieuse ? N'a-t-on pas émis l'hypothèse que la croissance de la lame des laminaires (*Alaria*) était inhibée par des substances produites, en été, au niveau du stipe (Buggeln, 1977) ?

2) Approches expérimentales des transports à longue distance

Les approches indirectes

Avant de rappeler les méthodes expérimentales qui ont permis d'affirmer l'existence d'un transport à longue distance, il apparait indispensable de rappeler brièvement la structure de l'appareil conducteur.

Structure et ultrastructure de l'appareil conducteur

Nous renvoyons pour cette partie portant sur l'organisation, sur la structure et l'ultrastructure de l'appareil conducteur, aux diverses mises au point qui ont paru sur le sujet (voir Schmitz, 1990 et références). Les seuls points qu'il faut avoir présents à l'esprit pour comprendre la physiologie du transport à longue distance des nutriments me paraissent être les suivants:

- La médulla centrale (en particulier chez les Laminariales) se présente comme un réseau de files longitudinales avec des connexions entre les différentes cellules. Certaines de ces cellules s'organisent longitudinalement en "éléments criblés" (=sieve elements[1]) tandis que d'autres, spécialement celles qui courent radialement, donnent des hyphes. Des connexions entre éléments criblés et hyphes ne semblent pas exister.

- La cellule criblée présente les caractéristiques suivantes (Fig. 1): c'est une cellule vivante dont la longueur peut atteindre 600 μm; sa forme de cellule en trompette vient de l'étirement lié à sa croissance en longueur. Elle possède un noyau, des chloroplastes; la présence de nombreuses mitochondries contraste avec la pauvreté de ces organites dans le tube criblé des plantes vasculaires. Entre deux cellules voisines, il existe une plage perforée de nombreux pores dont le

---

(1) On emploiera parfois le terme de tube criblé peut-être abusivement dans la mesure où cette appellation devrait être réservée à l'élément conducteur des végétaux supérieurs.

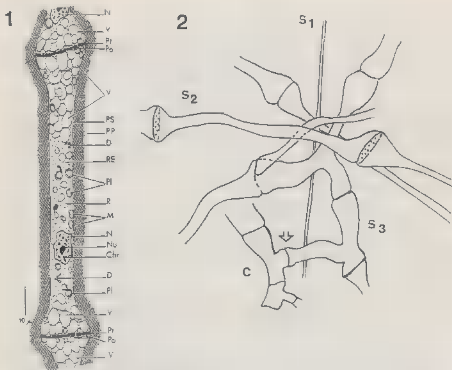


Fig. 1 - Représentation schématique d'un "tube criblé" jeune de *Alaria marginata*. (Dessin de Floc'h (1979), d'après Schmitz & Srivastava, 1975). N: noyau; Nu: nucléole; Chr: chromatine; PP: paroi primaire; PS: paroi secondaire; Pt: paroi transversale; Po: pores; V: vacuoles; P1: plaste; M: mitochondrie; D: dictyosome; RE: réticulum endoplasmique; R: ribosomes.

Fig. 2 - Organisation spatiale du système conducteur dans la lame d' *Alaria tenuifolia* (d'après Schmitz, 1984); on y distingue 3 types de cellules: S1: tube criblé ancien, non fonctionnel, se présente sous la forme d un long filament, serait obturé par de la callose. S2: tube criblé adulte, fonctionnel, a l'allure de cellule en trompette (ceci étant dû à l'étirement); il n'est pas directement relié aux cellules parenchymateuses. S3: tube criblé jeune, moins long, il forme un réseau de drainage très ramifié et serait connecté (flèche) avec les cellules du cortex (C).

diamètre, la taille et la densité varient en fonction du degré de différenciation (Tableau I). Chaque pore est tapissé de plasmalemme; si l'on se réfère à la taille des pores, il est vraisemblable que de petites vésicules, des ribosomes et même des éléments du réticulum endoplasmique peuvent franchir ces pores. Dans les tubes criblés âgés, les dictyosomes et les ribosomes disparaissent, les membranes et les organites dégénèrent; il y a vacuolisation des mitochondries, les chloroplastes se déforment et perdent leurs thylakoïdes. D'une manière générale, il y a perte de colorabilité et apparition de callose.

Enfin deux caractéristiques importantes méritent d'être rappelées: c'est qu'à la différence des végétaux supérieurs il n'y a ici ni cellule compagne, ni P-

protéines (Schmitz & Srivastava, 1974a, 1975; Sideman & Scheirer, 1977). Cette absence de cellule compagne peut expliquer le grand nombre d'organites fonctionnels dans le tube criblé lui-même.

Tableau 1 - Relations entre vitesse de transport et degré de différenciation des voies conductrices (d'après Schmitz, 1990).

Espèce	Diamètre des pores (μm)	Fréquence (n.100μm^{-2})	Vitesse (en cm h^{-1})
Laminaires	0,04-0,09	5000-6000	5-10
Alaria marginata	0,1-0,3	1800	25-40
Nereocystis	0,4-0,9	40	17-57
Macrocystis integrifolia	0,7-4,5	7-15	35-72
Macrocystis pyrifera	2,4-6	3-8	65-78

Dans la lame de *Alaria tenuifolia* Setchell *in* Collins (Schmitz, 1984) ces cellules parviennent à créer un réseau de drainage plus ou moins complexe au sein duquel on trouve des éléments d'âge différent (Fig. 2).

Quant aux hyphes, leur ultrastructure est, à bien des égards, comparable à celle des tubes criblés jeunes, mais ces cellules ne prennent pas la forme dite "en trompette". Vers la partie centrale de la médulla, il y aurait des connexions avec les cellules parenchymateuses. Ces cellules peuvent atteindre 1000 μm de longueur; leur lumière se réduit également.

Bilan de C et de N

Quelques réflexions avaient laissé supposer qu'un mouvement de redistribution des nutriments participait à la physiologie de l'algue. C'est ainsi que Sargent & Landtrip (1952) avaient mesuré dans différentes parties de la fronde du *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Ag. à la fois le taux de croissance (impliquant la fixation de quantités de C) et le taux de fixation photosynthétique: ils trouvèrent que les tissus en croissance (jeunes phylloïdes) présentaient un accroissement en poids sec supérieur à celui qui pouvait être dû à la seule fixation photosynthétique du C, tandis que les phylloïdes parfaitement développées présentaient un excédent de C, d'où l'idée que le déficit en C des zones en croissance pouvait être comblé par le C venant des phylloïdes adultes. Ce qui vient d'être dit est valable aussi pour le bilan d'azote. Enfin, cette analyse serait retrouvée aussi chez *L. hyperborea* (Gunn.) Fosl. (Fig. 5A), algue chez laquelle la croissance de jeune lame procède d'une fixation photosynthétique du C, d'une fixation obscure du C (par la voie de la PEPCase) et enfin d'un flux important de métabolites venant de l'ancienne lame.

Analyse des exsudats

L'analyse des exsudats peut dans certaines limites participer à nos connaissances sur le transport à longue distance: elle semble avoir été employée pour la première fois par Crafts (1939) dans le cas du *Macrocystis* des côtes californiennes. Nous y reviendrons.

Les approches directes

Ces méthodes sont basées pour l'essentiel aujourd'hui sur l'emploi de traceurs radioactifs avec toutes les techniques généralement employées en ce domaine à savoir:

- autoradiographie permettant de visualiser des déplacements

- histophotographie (microlocalisation)
- mesures quantitatives (vitesse, taux de transport)
- identification des substances mobiles par des analyses chromatographiques des composés formés au niveau des différents organes. Cette approche procède aussi de la mesure des modifications des équilibres au sein des substances formées en fonction de l'organe considéré (source ou "sink") et en fonction de la distance.

Parallèlement la collecte des exsudats, après utilisation d'un radiotraceur, permettra d'analyser et de quantifier les substances présentes et/ou véhiculées dans les voies conductrices.

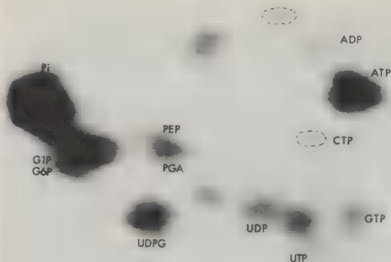
II. LES CARACTERISTIQUES DU TRANSPORT A LONGUE DISTANCE

1) Analyse des exsudats. Simple présence ou formes de transport ?

Bien que cette technique ait été utilisée par différents auteurs (Crafts, 1939; Parker, 1966) les meilleurs résultats en ce domaine me paraissent être ceux donnés par Schmitz & Srivastata (1979) et concernent respectivement *M. integrifolia* Bory et *M. pyrifera* (Tableau II). Parmi la fraction organique, le composé qui prédomine est le mannitol (100 mg.ml^{-1}) qui peut atteindre 65-74% du poids sec. C'est un polyol présent parfois aussi chez les végétaux supérieurs (dans la famille des Oléacées: *Fraxinus*, *Syringa*). La fraction acides aminés atteint 15%; parmi ceux-ci les couples Glutamine/Glutamate et Asparagine/Aspartate représentent des composés azotés qui prédominent tant chez le *Macrocystis* (Tableau II) que chez les végétaux supérieurs (Ziegler, 1975). La fraction restante représente pour l'essentiel la fraction minérale (15%); à ce niveau c'est le K qui prédomine. Ces résultats confirment la valeur élevée du rapport K/Na trouvée chez le *Nereocystis* (Nicholson & Briggs, 1972). A côté de cela on notera une fraction protéique atteignant 1 à 2%; le malate peut aussi être présent (2%). La composition et la pression osmotique élevée de cette "sève" sont donc assez proches de celles des végétaux supérieurs (Hall & Baker, 1972; Ziegler, 1975), sauf bien entendu en ce qui concerne la fraction "glucidique" où le saccharose est remplacé par le mannitol.

Un composé fréquemment rencontré est l'ATP dont les concentrations varient entre 1150 et 1210 μg/ml^{-1} (Schmitz & Srivastava, 1974b), contre 615 μg/ml dans le phloème de *Yucca* (Klüge *et al.*, 1970) mais la présence de ce composé (ainsi que celle d'autres nucléotides: Fig. 3) qui se caractérise par un turn-over très rapide, ne signifie pas qu'il soit transporté, mais plus vraisemblablement qu'il est impliqué dans le maintien des structures du "sieve-element" ou dans le transport lui-même.

D'une manière plus générale la présence d'une substance dans ces cellules conductrices n'est qu'une indication et ne donne aucune certitude quant à sa mobilité dans la plante. Seule l'identification d'une molécule (marquée) retrouvée sous la même forme, à une certaine distance du point d'apport plaide en faveur de sa mobilité. C'est ce que donnent les résultats de Schmitz *et al.*, (1972) relatifs à deux laminaires (*L. hyperborea* et *L. saccharina* (L.) Lamour.), de Schmitz & Srivastava (1975) relatifs à *Alaria marginata* Postels et Ruprecht et ceux enfin de Schmitz & Srivastava (1979) sur le *Macrocystis*.



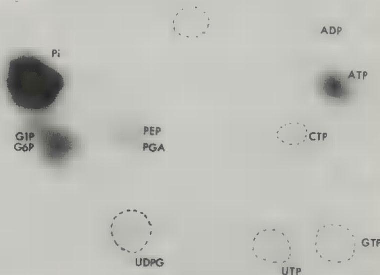


Fig. 3 - Visualisation par autoradiographie des composés phosphorylés mis en évidence chez l'algue *Ascophyllum nodosum* après injection de ^{32}P dans le thalle. 3A: zone d'apport. 3B: composés mis en évidence après 24h de transport à 5cm de la zone d'apport. On notera la prédominance de la fraction Pi. Seuls les hexoses-P et l'ATP sont encore visibles. Les autres composés sont à l'état de traces. (d'après Penot *et al.*, 1992).

Tableau II - Caractéristiques et composition chimique des exsudats de deux *Macrocystis* (*M. integrifolia* et *M. pyrifera*). Valeurs en mg ml^{-1} (d'après Schmitz & Srivastava, 1979).

	Macrocystis integrifolia	*Macrocystis pyrifera*
Débit (ml h^{-1})	0,6-2,1	1,2-1,8
pH	7,25-7,30	6,95
Poids sec	152-156	170-178
Mannitol (essentiellement)	93-105	130
Acides aminés	22,7-23,7	17-2-18,4
Asp	5,05	4,60
Thr	1,03	1,06
Ser	0,89	0,56
Asn − Gln	9,37	6,06
Glu	3,94	3,10
Gly	0,05	0,10
Ala	1,61	2,00
Val	0,19	0,24
Meth	0,07	0,09
Iso-Leu	0,09	0,07
Leu	0,09	0,07
Tyr	0,17	0,26
Phe	0,16	0,18
Protéines	1,6-1,8	1,5
Potassium	12,4	12,6
Sodium	0,75-0,8	1,125
Magnesium	0,9	1,1

Molécules organiques

Ainsi le D-mannitol et quelques acides aminés (alanine, aspartate, glutamate, glycine et serine) apparaissent comme des formes circulantes issues du métabolisme du carbone. Une modification du rapport mannitol/acides aminés en fonction de la distance peut plaider en faveur d'une mobilité indépendante ou en faveur d'un transfert latéral des molécules en fonction des besoins spécifiques émanant des tissus proches des voies de conduction (Buggeln & Lucken, 1979).

Enfin, la mobilité (mais non la forme de transport) est attestée par la méthode des autoradiographies. Nombreux sont les résultats qui attestent de la mobilité de composés issus de métabolisme du ^{14}C ou de nombreux éléments minéraux (Fig. 5).

La technique plus fine des histophotographies a permis à différents auteurs de confirmer le rôle prépondérant des tissus conducteurs tant chez les Laminariales (Lüning *et al.*, 1972; Schmitz *et al.*, 1972; Steinbiss & Schmitz, 1973), que chez les Fucales (Diouris & Floc'h, 1984).

Ce rôle des voies conductrices est par ailleurs confirmé par l'absence de radioactivité au-delà d'une zone dont la continuité tissulaire a été interrompue expérimentalement (Floc'h & Penot, 1972).

Eléments minéraux - Forme de transport

La question des formes de transport ne se pose guère que dans quelques cas particuliers: phosphates, sulfates, puisqu'on ne connait pas de composé métabolique incorporant le K^+ qui est, nous l'avons vu, l'élément minéral qui prédomine dans les exsudats de *Macrocystis* (Tableau II) ou de *Nereocystis* (Nicholson & Briggs, 1972) et dont la mobilité est bien connue.

En ce qui concerne le phosphore, deux formes sont potentiellement mobiles: la forme Pi et la fraction hexoses-phosphates. Après marquage au ^{32}P Schmitz & Srivastava (1975, 1979) pensent que chez le *Macrocystis* ce sont les hexoses-P qui représenteraient la forme véhiculable du P. Néanmoins au pH $\geq$ 7 qui est celui de la "sève" c'est la forme HPO_4^{2-} qui prédomine; il est vraisemblable que c'est sous cette forme que le P est mobile tant chez les algues que chez les végétaux supérieurs. C'est d'ailleurs dans ce sens que vont les conclusions de Penot *et al.* (1992) qui montrent que c'est la fraction Pi qui prédomine tant chez l' *Ascophyllum* que chez le *Polysiphonia*, algue épiphyte (ou parasite) de la précédente lorsque les analyses sont faites à une certaine distance du point d'apport du ^{32}P (Fig. 3B). La présence de nombreux autres composés organiques phosphorylés parmi lesquels prédominent l'ATP ainsi que les autres nucléotides (ADP, UTP, UDPG, etc.) n'est pas indicatrice de ce qu'ils soient des formes de transport mais plutôt le reflet d'un rôle dans le maintien d'une activité métabolique importante.

De nombreux oligo-éléments peuvent être présents dans les exsudats (Zn, Cu, Mo, Mn, Fe) à des concentrations parfois bien supérieures à celle de l'eau de mer; la question de leur forme de transport est évoquée: selon Manley (1981) ces éléments pourraient être transportés sous des formes chelatées avec les phosphate, aspartate ou glutamate, ou avec les protéines suffisamment abondantes (1,34 mg/ml).

La question des sulfates ne semble pas avoir reçu de réponse jusqu'à présent bien que cet élément joue, sous la forme de groupement OSO_3^-, un rôle prépondérant dans les constituants des parois des Phéophycées (fucoïdanes) ou des Rhodophycées (carraghénanes, etc.).

2) Transport spécifique de masse et vitesses

L'un des paramètres couramment défini dans la physiologie des transports est le transfert spécifique de masse (= specific mass-transfer) qui en fait caractérise un flux. Il est donné par la relation suivante:

Flux = Concentration x vitesse

(μMol $cm^{-2}s^{-1}$) = (μMol cm^{-3}) (cm s^{-1})

Il n'y a, en fait, que très peu de valeurs fournies; ce flux serait compris entre 36 et 60 mg C/semaine/100 cm^2 soit 0,4 mg C/semaine/mm^2 de section de médulla chez *Alaria* (Buggeln, 1976, 1981). Cette valeur paraît bien faible par comparaison avec les valeurs trouvées dans le cas des végétaux supérieurs, 1,7 g C h^{-1} cm^{-2} dans le cas de *Cucurbita* ou 2,2 g C h^{-1} cm^{-2} pour les fruits de *Kigelia* (Canny, 1973).

De plus cette notion est intéressante, car elle permet aussi d'estimer la vitesse des déplacements. Ceci est important car, au-delà d'une simple grandeur, la mesure de ce paramètre permet d'approcher les mécanismes et la nature des composantes (physiques, physico-chimiques, biologiques) susceptibles de partici-

per au transport à longue distance. En réalité les résultats obtenus vont dépendre pour beaucoup des techniques employées (basée sur l'emploi de traceurs radioactifs (Tableau III) et du degré de différenciation des tissus conducteurs de l'algue étudiée (Tableau I).

Tableau III: Vitesse des transports à longue distance chez les algues marines.

NATURE DU TRACEUR	MATERIEL	VALEURS	REFERENCES
Fluorescéine	*Macrocystis*	1 cm h^{-1}	Parker (1965)
^{14}C-assimilats	*Nereocystis*	40 cm h^{-1}	Nicholson & Briggs (1972)
^{14}C-assimilats	*Delesseria*	63 cm h^{-1}	Hartmann & Eschrich (1969)
^{14}C-assimilats	*L. hyperborea* *L. saccharina*	5-10 cm h^{-1}	Schmitz *et al.* (1972)
^{14}C-assimilats	*Alaria*	1,7-3,5 mm h^{-1}	Buggeln (1981, 1983) (expérience de 11 jours)
^{86}Rb-^{32}P	Laminaires	1-2 cm h^{-1}	Floc'h & Penot (1972
^{86}Rb (K)	Diverses Fucales et Laminariales	500-1 200 cm h^{-1}	Penot & Penot (1979) (durée = 5 min.)

Plusieurs remarques peuvent être faites à partir de ces données:

1) La vitesse est toujours supérieure à celle de la simple diffusion; la mise en place d'une voie conductrice rend plus rapide, plus aisé le transport à longue distance;

2) Plus le degré de différenciation des voies conductrices est élevé, plus le transport est facilité et plus il s'effectue avec une vitesse élevée;

3) La question des vitesses mérite une nouvelle fois d'être reconsidérée, dans une optique visant à préciser la nature du(des) mécanismes impliqués dans ce transport. Plusieurs auteurs ont mis en évidence, chez les végétaux supérieurs, une composante rapide du transport (Fensom, 1972; Penot, 1976). La mise en évidence d'une telle composante rapide procède en fait du choix d'un élément phloème-mobile non métabolisable (^{86}Rb (K)), d'une charge importante en radiotraceur au niveau de la zone source et d'une durée de transport limitée dans le temps (5-10 min.). La réalité d'une telle composante a été ainsi mise en évidence chez diverses espèces de Fucales ou de Laminariales (Penot & Penot, 1979); ceci n'apparait en aucun cas, comme d'aucuns le prétendent, comme un artéfact dû à une contamination par l'intermédiaire du milieu aqueux, car lorsqu'une telle contamination apparaît, les images autoradiographiques, sont d'une toute autre nature (Fig. 4B).

En fait toutes les autres valeurs (v. Tableau III) apparaissent plus comme le reflet d'une vitesse moyenne devant prendre en compte le remplissage des compartiments latéraux. Même si ce déplacement des nutriments est majoritairement un déplacement en masse s'effectuant par le symplasme, cela n'exclut pas l'existence d'une composante rapide se situant au niveau des interfaces dont la nature et le support restent à préciser; mais la cellule n'est-elle pas un ensemble d'interfaces ?

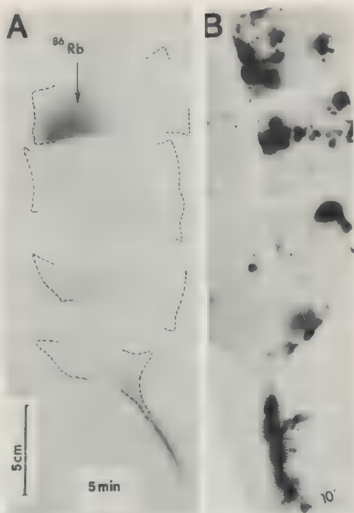


Fig. 4 - Mise en évidence d'une composante rapide dans le transport à longue distance. 4A: transport de ^{86}Rb chez *L. digitata*. On notera l'accumulation lointaine du traceur au niveau du stipe (flèche). 4B: image autoradiographique obtenue dans les mêmes conditions mais après contamination de l'algue (*S. polyschides*) par le milieu. (d'après Penot & Penot, 1979).

Pour conclure sur cet aspect, l'existence d'une telle composante rapide pourrait être en accord avec des trains d'ondes, de pulsations, précédant un courant de masse (Buggeln *et al.*, 1985) trouvant, selon les auteurs, leur origine dans un turn-over rapide des nucléotides incluant l'ATP (< 1 min) ou dans un processus de transport impliquant la participation d'un complexe contractile de

type actine-myosine. D'autre part, si l'on se réfère aux valeurs issues des données sur le SMT (valeurs calculées sur la base de la surface des éléments conducteurs seuls (Schmitz, 1981) on constate que celles-ci ne sont pas très éloignées (342 cm h^{-1}) de celles mesurées par Penot & Penot (1979): 348 cm h^{-1} chez *L. digitata* (Huds.) Lamour. et 586 cm h^{-1} chez *S. polyschides* (Lightf.) Batt. par exemple.

Enfin si une contamination par le milieu extérieur a pu parfois être envisagée dans le cas des végétaux aquatiques, une telle contamination est exclue dans le cas de la figure 4; de plus cet argument n'a plus aucune valeur dans le cas des végétaux supérieurs chez lesquels une composante rapide a pu être mise en évidence y compris dans le cas des déplacements d'auxine (Miginiac *et al.*, 1981).

3) Le transport est un transport orienté

Cette notion de transport orienté signifie que les déplacements s'effectuent depuis une zone donneuse vers des zones receveuses, c'est-à-dire selon une relation de type source-sink selon la terminologie anglo-saxonne. Ce type de déplacements, maintes fois souligné, signifie que le transport s'effectue depuis des lieux de synthèse (méristoderme) ou de dépolymérisation (organe de réserve) vers les organes en croissance ou vers des lieux de stockage; que cela concerne des molécules organiques, mannitol ou acides aminés (Lüning *et al.*, 1972) ou des éléments minéraux (Floc'h & Penot, 1972); que ce soit chez les Laminariales ou les Fucales (Fig. 5).

De tout évidence cela s'oppose à la simple diffusion qui ne peut être que pluridirectionnelle (Fig. 5D).

La signification de ces flux orientés soulève encore toute une série de questions en particulier quant aux processus initiateurs du mouvement. L'origine de ce processus se situe-t-elle au niveau de l'organe source (élévation du gradient de concentration consécutif aux synthèses nouvelles), au niveau de l'organe receveur au niveau duquel la croissance ou la polymérisation crée un vide en aval et sert à abaisser le gradient de concentration ou encore de la conjugaison des deux processus ? La part active jouée par le récepteur apparait bien dans la mesure où un traitement au froid ou à l'aide d'un inhibiteur métabolique diminue les flux non seulement au niveau de la zone traitée mais aussi en amont de cette zone ce qui veut dire que le mécanisme initiateur d'un flux orienté trouve son origine au niveau du récepteur (Fig. 6). Chez les végétaux supérieurs on sait qu'un traitement hormonal (auxine, cytokinines, gibbérellines), voire même acide abscissique (v. Suleiman *et al.*, 1990) peut renforcer la puissance attractive d'un organe, indépendamment de tout processus de croissance (Fig. 7). L'effet attractif développé par l'hormone s'exerçant à l'égard des molécules non métabolisables (acides aminés ou 3-0-méthyl-glucose; Fig. 7B) plaide en faveur d'une action hormonale sur le transport actif local.

Ici rien de comparable n'a encore été obtenu; c'est donc toute la question du contrôle des flux de métabolites qui se pose, qu'ils se situent dans le contexte d'un contrôle hormonal, ou dans un contexte indépendant de ces messagers chimiques.

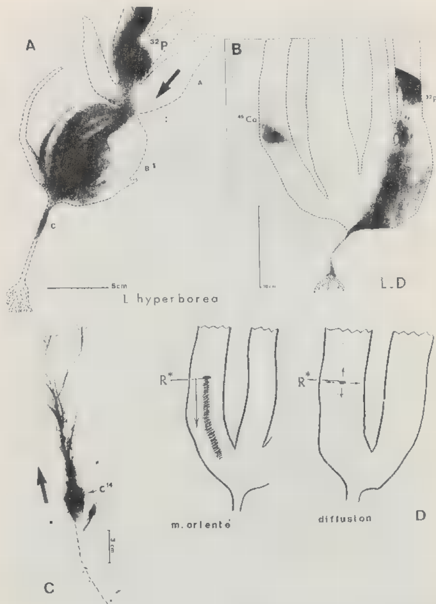
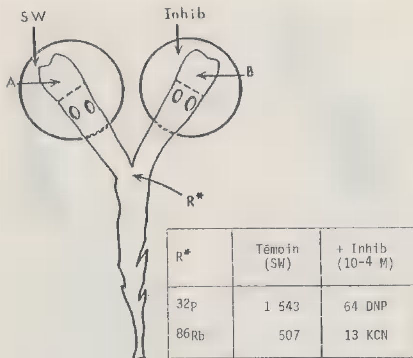


Fig. 5 - Quelques exemples d'autoradiographies illustrant la notion de transport orienté s'opposant à la notion d'un transport diffusif simple. 5A: transport basipète de ^{32}P depuis l'ancienne lame (A) vers la nouvelle lame (B) en formation: on notera l'accumulation du radiotraceur au niveau du stipe (C) comme dans l'expérience précèdente *L. hyperborea*. (d'après Penot *et al.*, 1976). 5B: étude comparée du transport de ^{32}P (migration basipète) et du ^{45}Ca (faible mobilité ou transport diffusif) *L. digitata*. (d'après Penot *et al.*, 1976). 5C: transport acropète de ^{14}C-assimilats vers l'apex *Cystoseira nodicaulis* (original). 5D: schéma illustrant les notions de transport orienté et de transport diffusif.



R*	Témoin (SW)	+ Inhib (10^{-4} M)
^{32}P	1 543	64 DNP
^{86}Rb	507	13 KCN

Fig. 6 - Schéma illustrant l'influence des inhibiteurs sur l'effet attractif développé par l'apex. Expérience menée chez *F. vesiculosus* avec ^{32}P ou ^{86}Rb. Résultats donnés en Imp/100 s/100 mg PF. (d'après Floc'h & Penot, 1981).

III. COMPOSANTES DU TRANSPORT A LONGUE DISTANCE - VOIES ET MECANISMES

Dans l'étude des mécanismes impliqués dans le transport à longue distance, il y a lieu en fait de distinguer entre deux aspects de la question: d'une part ce qui a trait au fonctionnement de la voie conductrice elle-même et d'autre part ce qui a trait aux mécanismes fins impliqués dans les processus d'entrée (charge ou loading) et de sortie (décharge ou unloading) des nutriments.

En ce qui concerne le fonctionnement de la voie conductrice proprement dite deux hypothèses ont été avancées pour rendre compte des déplacements à longue distance: la première fait appel à un **courant de masse**; la seconde tout à l'opposé relève d'une **diffusion "activée"**.

Le courant de masse (mass-flow de Münch, 1930) procède d'un gradient de turgescence généré par un gradient osmotique entre les lieux de production et les lieux d'utilisation. Cela suppose que 3 conditions au moins soient remplies:



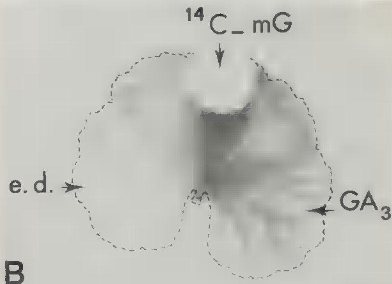


Fig. 7 - Autoradiographies de feuilles *Pelargonium* permettant de mettre en évidence l'effet attractif développé par un traitement hormonal localisé (ici l'acide gibbérellique GA_3 à 25 mg l^{-1}). A: Effet sur le ^{35}S. B: Effet sur le 3-0 méthyl-glucose.

1) qu'aucune résistance ne s'oppose aux flux de nutriments, ce qui veut dire que les pores des plages criblées doivent être "vides" de tout matériel cytoplasmique;

2) cela suppose aussi qu'il y ait un flux simultané et unidirectionnel des solutés et du solvant;

3) cela suppose enfin qu'il y ait une voie de retour ou une possibilité d'évacuation du solvant (équivalente à la voie du xylème chez les végétaux supérieurs).

Aucune de ces conditions ne se trouve, *a priori*, remplie chez les algues. Les tubes criblés fonctionnels (Schmitz & Srivastava, 1975) sont des tubes jeunes, riches en matériel cytoplasmique, avec une abondance de petites vacuoles au voisinage des plages criblées (Fig. 1). La seule exception à cette constatation pourrait être le cas du *Macrocystis* chez lequel les pores apparaissent dépourvus de matériel cytoplasmique (Schmitz, 1981).

En ce qui concerne la mobilité du solvant, Schmitz & Srivastava (1980) ont bien tenté de mettre en évidence un mouvement d'eau tritiée (THO) le long du thalle de *M. integrifolia*. L'accord avec l'hypothèse de départ n'est que partiel; certes, il y a bien un déplacement de la radioactivité (^{3}H) mais la plus grande partie de cette radioactivité (de 2 à 10 fois) se retrouve dans les composés organiques du fait d'une dilution isotopique ($^{3}H/^{1}H$) importante. Certes, il y a aussi "émission d'eau" vers le milieu extérieur mais en si faibles quantités (2500 dpm/ml) que les auteurs ne paraissent pas entièrement convaincus de leurs propres conclusions qui avancent d'autres hypothèses de type électro-osmose, diffusion, transport actif, etc.

Pour Buggeln (1978), pourtant partisan d'un mass-flow, aucun gradient osmotique significatif n'a pa être mis expérimentalement en évidence chez *Alaria* sur des distances de 100 cm alors que pour assurer les flux mesurés (SMT) il faudrait d'après Weatherley (1974) des différences de plusieurs dizaines d'atmosphères m^{-1} pour faire fonctionner le système au travers de pores de 0,1 μm, ce qui est bien l'ordre de grandeur du diamètre des pores chez beaucoup d'algues (voir Sideman & Scheirer, 1977 et Tableau I).

En conclusion le mass-flow ne paraît pas la meilleure hypothèse pour rendre compte des migration de nutriments: d'autres arguments (renversements de flux en cas de blessures, migrations indépendantes par exemple du ^{14}C et du ^{32}P - Schmitz & Srivastava, 1975, etc.) viennent également l'affaiblir.

A l'opposé une migration selon un processus diffusif implique en premier lieu que la diffusion soit "activée" pour être compatible avec l'aspect quantitatif du transport. Celle-ci peut l'être par l'intermédiaire d'un courant cytoplasmique, par une diffusion au niveau des interfaces, par des mouvements engendrés par des protéines contractiles, enfin par des mécanismes actifs, impliquant une "sécrétion" (= loading) et un retrait (unloading) actifs à chacun des pôles reliés par le tissu conducteur.

Des courants cytoplasmiques générés par des filaments présumés d'actine ou de myosine peuvent rendre compte de ce type d'activation chez les Characées (Allen, 1980; Trebacz *et al.*, 1988). La N-éthyl maléimide (NEM) qui est un inhibiteur des groupes SH bloque de manière irréversible à la fois le transport et le courant cytoplasmique; elle se lierait notamment aux molécules de myosine (Dale *et al.*, 1983). C'est un peu dans le même sens que parlent les expériences de Floc'h & Penot (1978) qui montrent que la cycloheximide (= CHM) bloque le transport vers les "sinks" actifs, (Fig. 8). L'ATP pourrait jouer

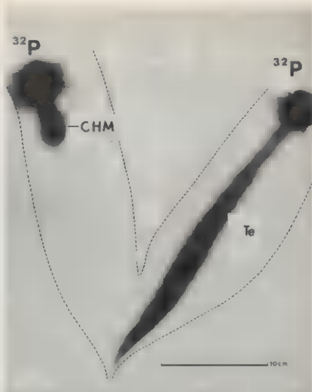


Fig. 8 - Autoradiographie illustrant l'influence de la cycloheximide (CHM = 50mg l^{-1}) sur la migration du ^{32}P chez *L. digitata*; l'une des lames sert toujours de témoin dans ces expériences. (d'après Penot *et al.*, 1976).

un rôle important dans l'activation de ces molécules. Toutefois si l'on en croit les spécialistes, aucun mouvement cytoplasmique n'a été observé dans les tubes criblés chez les Laminariales (Buggeln, 1983; Schmitz, 1981).

La diminution de la force attractive du récepteur par le froid ou par des traitements avec des inhibiteur appropriés (Fig. 6) met en évidence le rôle actif joué par les cellules à ce niveau, ne serait-ce qu'en abaissant le gradient de concentration, condition favorable à une diffusion "activée".

En résumé, compte-tenu de la structure même du tube criblé, compte-tenu des vitesses de déplacements (lesquelles peuvent avoir une composante rapide) l'hypothèse d'une "diffusion activée" reste crédible, à condition que des recherches plus fines précisent la nature des composantes actives:

- mouvements de type interfacial au niveau des structures,
- participation de protéines contractiles,
- participation de processus de transport actif à chacun des pôles de l'algue.

En relation étroite avec ces différents aspects portant sur les mécanismes, un deuxième point de la physiologie des transports à longue distance porte sur la nature des voies suivies et sur les mécanismes fins, impliqués dans la charge et la décharge des voies conductrices. Ces modalités commencent à être bien connues chez les végétaux supérieurs tant du point de vue relations ultrastructurales (voies) que du point de vue processus biochimiques (Giaquinta,

1983; Delrot, 1987; Van Bel, 1989; Patrick, 1990) où 2 voies sont théoriquement possibles: la voie symplasmique et la voie apoplastique.

Qu'en est-il chez les algues ?

1) Voie symplasmique

Tout d'abord on sait que les "sieve-elements" forment, chez les Laminariales, un continuum symplasmique, sauf au niveau des crampons (Schmitz, 1981). Le loading représente le transfert des photoassimilats depuis la zone d'activité photosynthétique - le méristoderme avec la première assise de cellules du cortex, riche comme la précédente en phaeoplastes (Schmitz, 1990) - vers la couche de cellules adjacentes du cortex. Le deuxième point porte sur les relations ultrastructurales, sur la continuité cytoplasmique entre les cellules du cortex interne et les "tubes criblés". La mise en évidence de cette continuité cytoplasmique est essentielle pour soutenir l'hypothèse d'un transport entièrement symplasmique. L'absence de connections signifierait qu'il y a obligatoirement une étape apoplastique dans ce transfert tel que cela parait imposé dans le cas de la canne à sucre ou chez les caryopses de graminées (Wolswinkel, 1985).

Chez le *Macrocystis pyrifera* on peut distinguer au niveau d'une lame adulte 3 zones: le méristoderme, assise unique formée de petites cellules de 5 à 13 μm; en-dessous il y a un cortex externe formé de 1 à 2 assises de cellules à larges vacuoles; puis un cortex interne formé de 2 à 3 assises cellulaires; il y a enfin la médulla centrale avec 2 types de cellules (Fig. 9).

Buggeln *et al.* (1985) en ont fait l'étude ultrastructurale. Entre le méristoderme et les cellules du cortex ils notent, au niveau des parois radiales, tangentielles et transversales des plages (1 μm) riches en plasmodesmes avec des pores de 45 à 50 nm. Entre les cellules corticales, on note la présence de connections avec des pores dont la taille varie entre 35 et 60 nm. Enfin au niveau de la médulla centrale on note la présence de cellules de 15 à 20 μm de largeur, sises dans une matrice gélatineuse; le point le plus remarquable de cette observation est l'existence de connexions entre les tubes criblés et les cellules du cortex interne. Des observations convergentes avaient déjà été faites par Schmitz & Kuhn (1982) allant dans le sens de la mise en évidence de communications "plasmodesmales" chez deux laminaires (*L. hyperborea* et *L. saccharina*) au niveau des cellules corticales, sous la forme de champs de plasmodesmes, en disposition circulaire. Toutefois, bien qu'elles aient été recherchées, des connexions entre cortex et tubes criblés n'ont pas encore été établies ni ici, ni chez *Alaria* (Schmitz, 1984). La continuité symplasmique peut donc paraître bien établie au moins dans certaines limites territoriales.

Pour ces mêmes auteurs d'autres arguments indirects (d'ordre physiologique) plaideraient également en faveur d'un transport symplasmique: le premier c'est l'absence de spécificité du "loading" et du transport; le second repose sur le fait que si un transport apoplastique existait, il devrait y avoir fuite des photoassimilats dans le milieu. Ces deux affirmations me paraissent un peu gratuites.

2) Voie apoplastique

Seules jusqu'à présent les expériences de Pellegrini *et al.* (1991) basées sur l'emploi du La^{3+} ont permis de mettre en évidence la possibilité d'un chemi-

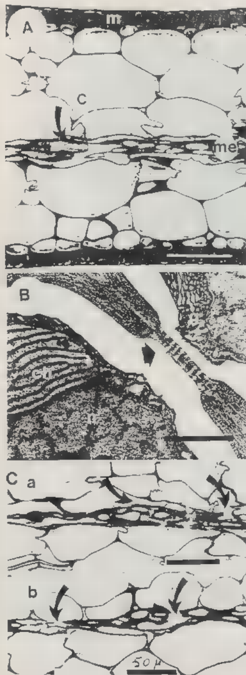


Fig. 9 - Structure et ultrastructure cellulaires dans la lame du *M. pyrifera*. 9A: coupe transversale montrant les 3 zones, méristématique (m), corticale (c) et médullaire (me). 9B: mise en évidence d'une plage à plasmodesmes sise au niveau du méristoderme. 9Ca et 9Cb: figures mettant en évidence les communications entre cellules du cortex et cellules de la médulla. (d'après Buggeln *et al.*, 1985).

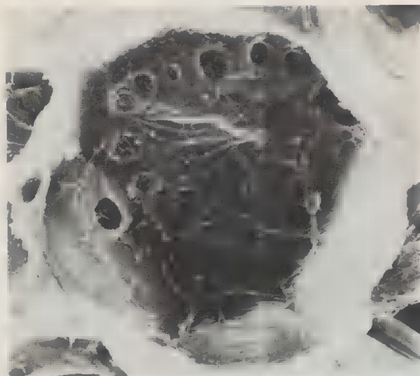


Fig. 10 - Plage à plasmodesmes (pit field) entre 2 cellules corticales au niveau du stipe de *Nereocystis sp.* (Original gracieusement fourni par le Dr K. Schmitz).

nement des solutés par la voie apoplastique chez *Cystoseira nodicaulis* (Wither.) Roberts. Ce qu'il faut souligner dans ces observations, c'est:

1) l'étroite localisation de cette zone qui se situerait entre le méristoderme et la deuxième assise du cortex externe (Fig. 11).

2) la confirmation en plus de l'existence dans la médulla d'une voie symplasmique attestée par la présence de pores de 70 nm au niveau des cloisons transversales (Penot *et al.*, 1985).

Ceci appuie donc l'idée qu'une voie apoplastique peut coexister parallèlement à la voie symplasmique et dont le rôle serait en fait d'assurer un contrôle de l'entrée des photoassimilats depuis la zone source, le méristoderme, vers le cortex interne. Il est certain que là encore on manque d'informations tant sur la recherche de cette voie chez d'autres algues, Laminariales ou Fucales, que sur les mécanismes biochimiques impliqués dans les flux de nutriments. Le schéma présenté figure 12 permet de concilier ces 2 points de vue mais il n'est que spéculatif.

A l'opposé aucune donnée n'est, à mon avis, disponible ni sur les mécanismes de sortie des nutriments, ni sur les voies. L'absence de continuité symplasmique au niveau des crampons (Schmitz, 1981) pose la question des

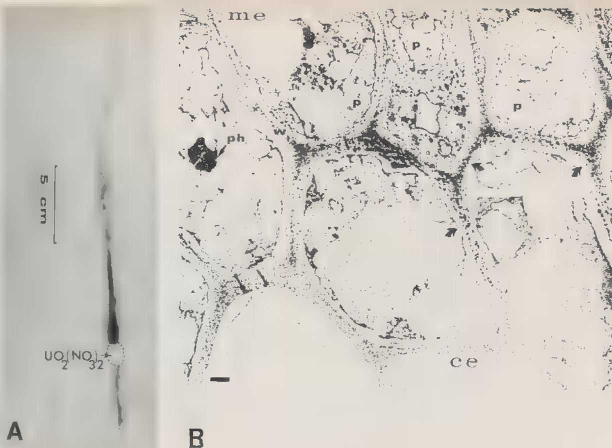


Fig. 11 - Arguments en faveur de l'existence d'une voie apoplastique chez 2 Fucales. A: autoradiographie du thalle de *Ascophyllum nodosum* après injection de sel d'uranium. On notera dans ce cas que le gradient est de type diffusif et s'oppose à un gradient "d'appel" auquel correspond une accumulation apicale, par exemple dans le cas du ^{32}P (original). B: localisation en microscopie électronique du La^{3+} chez *C. nodicaulis*, coupe transversale. On notera la répartition préférentielle (flèches) du La^{3+} au niveau de la zone située entre le méristoderme (me) et les cellules du cortex externe (ce). ph: physode; p: plaste (d'après Pellegrini *et al.*, 1991).

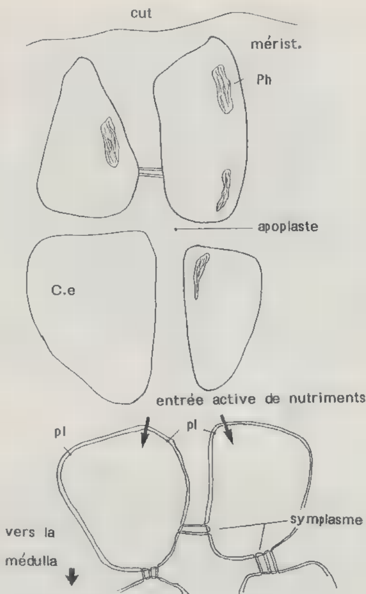


Fig. 12 - Schéma spéculatif sur ce que pourrait être le cheminement des assimilats depuis le méristoderme riche en phaeoplastes (Ph) et la médulla. Le passage obligé par le plasmalemme (pl) des cellules corticales permet d'envisager un contrôle (= sélectivité) des flux de nutriments issus de l'apoplaste. cut: cuticule, C.e.: cortex externe; Ph: phaeoplastes; pl: plasmalemme.

voies suivies et des mécanismes impliqués dans l'alimentation de cette zone, pourtant riche en polysaccharides de paroi.

CONCLUSIONS - PERSPECTIVES

Comme on l'a vu, le transport à longue distance chez les algues présente beaucoup d'analogies, beaucoup de similitudes avec le transport phloémien des végétaux supérieurs.

1. La première analogie repose sur la mise en place d'un appareil conducteur dont la différenciation va dans le sens d'un transport facilité. Cette différenciation du tube criblé va de pair avec une augmentation de la taille de l'algue (voir Tableau I). Si les pores des cribles semblent "vides" chez le *Macrocystis* ceux-ci semblent au contraire remplis de matériel cytoplasmique chez les autres algues, mais il faut faire remarquer que la première affirmation n'est pas partagée par tous les cytologistes; il y aurait donc lieu de la confirmer.

2. Le deuxième point souligne aussi la convergence sur le plan physiologique. Le transport est un transport orienté, suivant en cela la loi des relations de type source-sink. Le rôle important du récepteur apparaît par exemple dans la compétition entre les sinks actifs; il apparaît aussi par un renversement de l'orientation des flux par effet de blessure (Floc'h, 1976) ou par création d'un déficit en aval par mise à l'obscurité (Buggeln, 1983). Comme chez les végétaux supérieurs la question essentielle qui se pose est celle de l'induction d'un tel transport orienté. Apparait-il comme dépendant d'un vide en aval dont l'origine

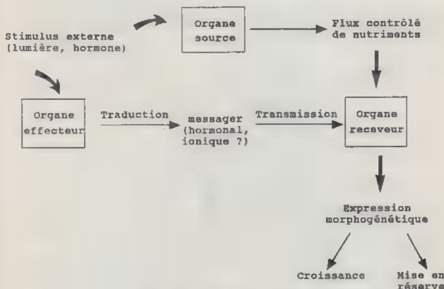


Fig. 13 - Schéma mettant en évidence les différentes étapes biochimiques pouvant être impliquées dans une régulation des flux de nutriments.

serait la croissance ou la mise en réserve, apparaît-il comme la conséquence de la mise en place d'un gradient osmotique généré par l'activité photosynthétique de la zone source ou la conjugaison de deux processus ? Une connaissance biochimique fine devrait porter sur cet aspect de l'origine et de la régulation des flux. La figure 13 essaie d'intégrer ces différents paramètres.

3. Les mécanismes fondamentaux soulèvent à ce niveau les mêmes questions que celles posées chez les végétaux supérieurs. Quels sont les mécanismes rendant compte de ces mouvements à longue distance: courant de masse, électro-osmose attribuant un rôle important au K^+ dont l'abondance a été rappelée (Tableau II): diffusion activée, par des processus strictement physiques (mouvements interfaciaux) ou biochimiques (protéines contractiles, courant cytoplasmique, mécanismes actifs à chaque pôle du végétal) ? A cet égard la richesse du tube criblé en ATP ne semble pas gratuite. Peut-on attribuer à cette molécule riche en énergie un rôle dans le maintien des structures, un rôle dans le contrôle des flux à courte-distance (entrée ou sortie) ? Y-a-t-il des activités ATPasiques spécifiques au niveau de chacun des compartiments impliqués dans le transport qui contrôlent les flux d'entrée, les flux de sortie des nutriments ? Les flux de mannitol et/ou d'acides aminés procèdent-ils de co-transport H^+-substrat comme c'est le cas chez les végétaux supérieurs pour les glucides (Delrot & Bonnemain, 1984) ?

4. Cela signifie aussi qu'aucune étude physiologique ne devrait, aujourd'hui, être entreprise sans qu'elle ne s'appuie sur une étude ultrastructurale fine (Van Bel & Kempers, 1990) précisant les relations entre les différents compartiments cellulaires, les activités biochimiques spécifiques. L'utilisation de colorants spécifiques (type Lucifer Yellow CH - Van Bel & Kempers, 1990) devrait permettre de visualiser les flux et les échanges entre les différentes cellules.

5. Le dernier point de ces réflexions a trait à l'étude des transports à longue distance chez d'autres groupes d'algues, tout ceci se situant dans un contexte de physiologie comparée. Quelle différence fonctionnelle existe-t-il entre

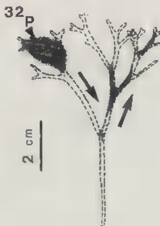


Fig. 14 - Autoradiographie de *Ch. crispus* après apport de ^{32}P au niveau de l'apex. Durée du transport: 1 jour *in situ*.

les solénocystes de *Saccorhiza* et les "sieve elements" des autres Laminariales. D'autre part, le transport a été mis en évidence chez d'autres algues moins différenciées: chez les Fucales (Diouris & Floc'h, 1984; Penot *et al.*, 1985); chez quelques Rhodophycées aussi, tant du point de vue des photosynthétats (*Delesseria sanguinea* (Huds.) Lamour.: Hartmann & Eschrich, 1969) que du point de vue de quelques éléments minéraux chez *Gelidium*, *Calliblepharis* (Penot *et al.*, 1976) ou *Chondrus* (Fig. 14). Mais là encore, si la présence de cellules allongées dans le sens de l'axe a été mise en évidence, les modalités, les mécanismes mis en jeu méritent des études détaillées en particulier si l'on songe à la présence de synapses dans ce groupe (Hartmann & Eschrich, 1969; Feldmann *et al.*, 1977; Schmitz, 1990).

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie le Professeur K. Schmitz pour la mise à disposition du document original de la figure 10; il remercie aussi les Drs Buggeln, Fensom et Emerson pour l'autorisation d'utiliser les documents formant la figure 9; il remercie enfin les lecteurs de la revue pour leurs remarques et suggestions souvent fort judicieuses.

BIBLIOGRAPHIE

ALLEN N.S., 1980 - Cytoplasmic streaming and transport in the Characean alga *Nitella*. *Canad. J. Bot.* 58: 786-796.

ANDREWS M., BOX R., FYSON A. & RAVEN J.A., 1984 - Source-sink characteristics of carbon transport in *Chara hispida*. *Pl. Cell and Envir.* 7: 683-687.

BUGGELN R.G., 1976 - The rate of translocation in *Alaria esculenta* (Laminariales, Phaeophyceae). *J. Phycol.* 12: 439-442.

BUGGELN R.G., 1977 - Physiological investigations on *Alaria esculenta* (Laminariales, Phaeophyceae). II. Role of translocation in blade growth. *J. Phycol.* 13: 212-218.

BUGGELN R.G., 1978 - Physiological investigations on *Alaria esculenta* (Laminariales, Phaeophyceae). III. Exudation by the blade. *J. Phycol.* 14: 54-56.

BUGGELN R.G. & LUCKEN S., 1979 - Kinetic characteristics of photoassimilate translocation in *Alaria esculenta* (Laminariales, Phaeophyceae). *Planta* 147: 241-245.

BUGGELN R.G., 1981 - Source-sink relationships in the blade of *Alaria esculenta* (Laminariales, Phaeophyceae). *J. Phycol.* 17: 102-104.

BUGGELN R.G., 1983 - Photoassimilate translocation in brown algae. *In* Round/Chapman (Eds.), *Progress in Phycological Research*, Vol. 2, pp. 283-332.

BUGGELN R.G., FENSOM D.S., EMERSON C.J., 1985 - Translocation of C-photoassimilate in the blade of *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae). *J. Phycol.*, 21: 35-40.

CANNY M.J., 1973 - *Phloem translocation*. London, Cambridge University Press, 301 p.

CRAFTS A.S., 1939 - The relation between structure and function of phloem. *Amer. J. Bot.* 26: 172-176.

DALE N., LUNN G. & FENSOM S., 1983 - Rates of axial transport of ^{11}C and ^{14}C in Characean cells: Faster than visible streaming ? *J. Exp. Bot.* 34 (139): 130-143.

DELROT S., 1987 - Phloem loading: apoplastic or symplasmic ? *Pl. Physiol. Biochem.* 25: 667-676.

DELROT S. & BONNEMAIN J.L., 1984 - Mechanisms and control of phloem transport. *Physiol. Vég.* 23: 119-220.

DIOURIS M. & FLOC'H J.Y., 1984 - Long-distance transport of ^{14}C-labelled assimilates in the Fucales: directionality, pathway and velocity. *Mar. Biol.* 78: 199-204.

FELDMANN J., FELDMANN G. & GUGLIELMI G., 1977 - Nouvelles observations sur l'ultrastructure des synapses des Rhodophycées. *Rev. Algol., N.S.* XII: 11-30.

FENSOM D.S., 1972 - A theory of translocation in phloem of *Heracleum* by contractile protein microfibrillar material. *Canad. J. Bot.* 50: 479-497.

FLOC'H J.Y. & PENOT M., 1972 - Transport du ^{32}P et du ^{86}Rb chez quelques algues brunes: orientation des migrations et voies de conduction. *Physiol. Vég.* 10: 677-686.

FLOC'H J.Y., 1976 - Appels de blessure et transport à longue distance d'éléments minéraux chez 2 algues brunes. *Physiol. Vég.* 14 (4): 767-777.

FLOC'H J.Y. & PENOT M., 1978 - Influence de la cycloheximide sur le transport à longue distance du ^{32}P chez *Laminaria digitata* (L.) Lamouroux. *Bot. Mar.* 21: 5-11.

FLOC'H J.Y., 1979 - *Etude du transport à longue distance des éléments minéraux dans le thalle des algues brunes.* Thèse Etat, Univ. Bret. Occid., Brest, 83 p.

FLOC'H J.Y., 1982 - Uptake of inorganic ions and their long distance transport in Fucales and Laminariales. *In* WALTER DE GRUYTER and Co (Eds.), *Synthetic and degradative Processes in Marine Macrophytes.* Berlin, New-York, pp. 139-166.

GIAQUINTA R.T., 1983 - Phloem loading of sucrose. *Ann. Rev. Pl. Physiol.* 34: 347-387.

HALL S.M. & BAKER D.A., 1972 - The chemical composition of *Ricinus* phloem exudate. *Planta* 106: 131-140.

HARTMANN T. & ESCHRICH W., 1969 - Stofftransport in Rotalgen. *Planta* 85: 803-812.

KLOAREG B. & QUATRANO R.S., 1988 - Structure of the cell walls of marine Algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 26: 259-315, M. Barnes, Ed. Aberdeen, Univ. Press.

LÜNING K., SCHMITZ K. & WILLENBRINK J., 1972 - Translocation of ^{14}C-labeled assimilates in two *Laminaria* species. *Proc. Int. Seaweed Symp.* 7: 420-425.

MANLEY S.L., 1981 - Iron uptake and translocation by *Macrocystis pyrifera. Pl. Physiol.* 68: 914-918.

MIGINIAC E., MALDINEY R., SCHWEBEL-DUGUE N., 1980 - Existence of a fast component of IAA transport in *Scrofularia arguta* Sol. and in *Lycopersicum Esculentum* Mill. *Plant. Sci. Lett.* 20 (1981): 355-364.

MÜNCH E., 1930 - *Die Stoffbewegungen in der Pflanze.* Verlag G. Fischer, Jena.

NICHOLSON N.L. & BRIGGS W.R., 1972 - Translocation of photosynthate in the brown alga *Nereocystis. Amer. J. Bot.* 59(1): 97-106.

PARKER B.C., 1965 - Translocation in the giant kelp *Macrocystis* I. Rates, direction, quantity of ^{14}C-labeled products and fluorescein. *J. Phycol.* 1, N° 2: 41-46.

PARKER B.C., 1966 - Translocation in *Macrocystis.* III. Composition of sieve tube exudate and identification of the Major ^{14}C-labeled products. *J. Phycol.*, 2: 38-41.

PATRICK J.M., 1990 - Sieve element unloading: cellular pathway, mechanism and control. *Physiol. Pl.* 78: 298-308.

PELLEGRINI L., EPIARD-LAHAYE M. & PENOT M., 1991 - De l'utilisation du lanthane comme traceur de la voie apoplastique chez *Cystoseira nodicaulis* (Fucales, Cystoseiraceae). *Canad. J. Bot.*, 69: 18-25.

PENOT M., 1976 - Mise en évidence de déplacements de ^{86}Rb à grande vitesse, dans le phloème de *Tradescantia viridis. Planta* 132: 183-187.

PENOT M., FLOC'H J.Y. & PENOT M., 1976 - Physiologie comparée des transports à longue distance chez les végétaux supérieurs et chez les algues marines. *Phycologia* 15 (3/4): 299-308.

PENOT M. & PENOT M., 1979 - High speed translocation of ions in seaweeds. *Z. Pflanzenphysiol.* 95: 265-273.

PENOT M., DUMAY J. & PELLEGRINI M., 1985 - Contribution à l'étude de la fixation et du transport du ^{14}C chez *Cystoseira nodicaulis* (Fucales, Cystoseiraceae). *Phycologia* 24 (1): 93-102.

PENOT M., HOURMANT A. & PENOT M., 1992 - Transport of phosphate between *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis and *Polysiphonia lanosa* (L.) Tandy. Comparative study of metabolism and forms of transport. *Physiol. Pl. (Copenhagen)* (soumis).

RAVEN J.A., 1984 - *Energetics and transport in aquatic plants.* Liss, New York.

SARGENT M.C. & LANTRIP L.W., 1952 - Photosynthesis, growth and translocation in giant kelp. *Amer. J. Bot.* 39: 99-107.

SAUVAGEAU C., 1918 - Recherches sur les laminaires des côtes de France. *Mém. Acad. Sci. Paris* 56: 1-240.

SCHMITZ K., LÜNING K. & WILLEBRINK J., 1972 - CO_2-Fixierung und Stofftransport in benthischen marinen Algen. II. Zum Ferntransport ^{14}C-markierter assimilate bei *Laminaria hyperborea* und *Laminaria saccharina*. *Z. Pflanzenphysiol.* 67: 418-429.

SCHMITZ K. & SRIVASTAVA L.M., 1974a - Fine structure and development of sieve tubes in *Laminaria groenlandica* Rosenv. *Cytobiologie* 10 (1): 66-87.

SCHMITZ K. & SRIVASTAVA L.M., 1974b - The enzymatic incorporation of ^{32}P into ATP and other organic compounds by sieve-tube sap of *Macrocystis integrifolia* Bory. *Planta* 116: 85-89.

SCHMITZ K. & SRIVASTAVA L.M., 1975 - On the fine structure of sieve tubes and the physiology of assimilate transport in *Alaria marginata*. *Canad. J. Bot.* 53 (9): 861-876.

SCHMITZ K. & SRIVASTAVA L.M., 1979 - Long distance transport in *Macrocystis integrifolia*. II. Tracer experiments with ^{14}C and ^{32}P. *Pl. Physiol.* 63: 1003-1009.

SCHMITZ K. & SRIVASTAVA L.M., 1980 - Long distance transport in *Macrocystis integrifolia*. III. Movement of THO. *Pl. Physiol.* 66: 66-69.

SCHMITZ K., 1981 - Translocation. *In* C.S. LOBBAN & M.J. WYNNE (Eds.), *The biology of Seaweeds*, Vol. 17, pp. 534-558.

SCHMITZ K. & KÜHN R., 1982 - Fine structure, distribution and frequency of plasmodesma and pits in the cortex of *Laminaria hyperborea* and *L. saccharina*. *Planta* 154: 385-392.

SCHMITZ K., 1984 - A cell system for symplastic transport of photoassimilate between meristoderm and sieve elements in *Alaria tenuifolia*. *Mar. Biol.* 78: 209-214.

SCHMITZ K., 1990 - Algae. *In* H.D. BEHNKE & R.D. SJOLUND (Eds.), *Sieve elements. Comparative structure, Induction and Development.* Springer Verlag, pp. 1-18. ISBN 3-540-50783-3.

SIDEMAN E.J. & SCHEIRER D.C., 1977 - Some fine structural observations on developing and mature sieve elements in the brown alga *Laminaria saccharina*. *Amer. J. Bot.* 64 (6): 649-657.

STEINBISS H.H. & SCHMITZ K., 1973 - CO_2-Fixierung und Stofftransport in benthischen marinen Algen. V. Zur autoradiographischen Lokalisation der Assimilattransportbahnen im Thallus von *Laminaria hyperborea*. *Planta* 112: 253-263.

SULEIMAN S., HOURMANT A., PENOT M., 1990 - Influence de l'Acide Abscissique sur le Transport d'Ions Inorganiques chez la Pomme de Terre (*Solanum tuberosum* cv. Bintje). Etude comparée avec quelques autres Phytohormones. *Biol. Pl.* 32: 128-137.

TREBACZ K., FENSOM D.S., HARRIS A., 1988 - Transnodal transport of ^{14}C in *Nitella flexilis*. III. Further studies on dissolved inorganic carbon movements in tandem cells. *J. Exp. Bot.* 39 (208): 1561-1573.

Van BEL A.J.E., 1989 - The challenge of symplastic phloem loading. *Botanica Acta* 102: 183-185.

Van BEL A.J.E. & KEMPERS R., 1990 - Symplastic isolation of the sieve element-companion cell complex in the phloem of *Ricinus communis* and *Salix alba* stems. *Planta* 183: 69-76.

WEATHERLEY P.E., 1974 - Some aspects of the Münch Hypothesis. *In* S. ARONOFF, J. DAINTY, P.R. GORHAM, L.M. SRIVASTAVA & C.A. SWANSON (Eds.), *Phloem transport*. Plenum Press, New York, pp. 535-555.

WOLSWINKEL P., 1985 - Phloem unloading and turgor-sensitive transport: factors involved in sink control of assimilate partitioning. *Physiol. Pl.* 65: 331-339.

ZIEGLER H., 1963 - Untersuchungen über die Feinstruktur des Phloems. II. Mitteilung: Die Siebplatten bei der Braunalge *Macrocystis pyrifera* (L.) Ag. *Protoplasma* 57: 786-799.

ZIEGLER H., 1975 - Nature of transported substances. *In* M.H. ZIMMERMANN & J.A. MILBURN (Eds.), *Transport in Plants. I Phloem transport*. Encyclopedia of Plant Physiology New series, Vol. 1, pp. 59-100.

FIBROCAPSA JAPONICA (RAPHIDOPHYCEAE), ALGUE PLANCTONIQUE NOUVELLE POUR LES CÔTES DE FRANCE

C. BILLARD

Laboratoire de Biologie et Biotechnologies marines (Phycologie), Université de Caen, 14032-Caen Cedex, France.

RÉSUMÉ - La présence de *Fibrocapsa japonica* Toriumi et Takano (Raphidophyceae) est rapportée pour la première fois en France, sur les côtes normandes de la Manche. Les caractères cytologiques originaux qui permettent une identification aisée de ce phytoflagellé monospécifique, inconnu jusqu'ici en Europe, sont illustrés. Les potentialités néfastes des efflorescences à Raphidophyceae marines sont rappelées et les trois autres genres à rechercher en France sont évoqués.

ABSTRACT - The presence of *Fibrocapsa japonica* Toriumi et Takano (Raphidophyceae) is reported for the first time in France, on the Channel coasts of Normandy. The peculiar cytological characteristics which permit [redacted] easy identification of this monospecific phytoflagellate, unknown so far in Europe, are illustrated. The fact that marine raphidophyte blooms may be harmful is recalled with a reminder of the three other genera to be looked for in France.

MOTS CLÉS : Côtes normandes, *Fibrocapsa*, phytoplancton nuisible, Raphidophycées.

INTRODUCTION

Dans le cadre du Programme National "Efflorescences algales marines toxiques" (PNEAT), nous réalisons depuis plus de deux ans un recensement et un suivi de la flore phytoplanctonique estivale d'un secteur sensible des côtes normandes. Depuis mai 1991, le suivi est hebdomadaire. L'accent est mis plus particulièrement sur la surveillance des phytoflagellés à potentialités néfastes. En dehors des dinoflagellés (Dinophycées) qui renferment la majorité des espèces toxiques connues, les autres phytoflagellés marins nuisibles, en nombre restreint jusqu'ici, se rencontrent pour l'heure dans trois classes distinctes: Prymnésiophycées (3 genres), Dictyochophycées (1 genre) et Raphidophycées (4 genres). A noter que la seule espèce néfaste connue chez les Chrysophycées, *Aureococcus anophagefferens* Hargraves et Sieburth est une algue coccoïde et picoplanctonique (Sieburth *et al.*, 1988).

Les Prymnésiophycées dans leur ensemble sont bien représentées sur nos côtes et ont fait l'objet de nombreux travaux, notamment à Caen. Les Dictyochophycées (Silicoflagellés) sont également présentes avec le genre cosmopolite néfaste, voire toxique, *Dictyocha* Ehrenberg. Au contraire, les Rhaphidophycées (= Chloromonadophycées ou chloromonadines) qui renferment plusieurs genres marins toxiques n'ont été que très rarement signalées sur

le littoral français, et toujours dans la région méditerranéenne, avec en l'occurrence une seule espèce du genre *Chattonella*, *C. subsalsa* Biecheler. Décrite dans des salins près de Sète (Biecheler, 1936) et retrouvée en 1976 par Mignot dans la même localité, cette espèce a été reconnue comme responsable d'une eau colorée dans la baie de Villefranche-sur-mer en 1961 (Trégouboff, 1962). Malgré des prospections assez régulières sur le littoral normand depuis près d'une vingtaine d'années, nous n'avions rencontré jusqu'ici aucune chloromonadine.

L'objet de la présente note est de rappeler la découverte en France d'une autre Raphidophycée marine, *Fibrocapsa japonica*, qui vient d'être observée tout récemment (octobre 1991) en Normandie dans le cadre du PNEAT. Addition nouvelle pour la flore française, cette algue décrite à l'origine du Japon (Toriumi & Takano, 1973) est également nouvelle pour le recensement des espèces nuisibles ou potentiellement nuisibles des côtes françaises, tel qu'établi dans un ouvrage du PNEAT (Sournia *et al.*, 1991). Par ailleurs ce phytoflagellé n'a, à notre connaissance, jamais été signalé sur les côtes européennes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Depuis mai 1991 et en fonction des conditions météorologiques, la Station marine de Luc-sur-mer (Calvados) nous fournit un trait hebdomadaire de plancton récolté par bateau et au filet (maillage: 15 μm) dans les eaux de surface de Luc, au Quihot, à 1500m de la côte. Le matériel est ramené rapidement au laboratoire à Caen où il est toujours traité vivant. Après un temps de repos (1-2 h ou plus) qui permet aux phytoflagellés de migrer en surface, ainsi qu'une décantation partielle des diatomées et des sédiments, plusieurs prélèvements sont effectués, en surface et au fond du récipient, et examinés au microscope.

Fibrocapsa japonica a été observé dans deux échantillons seulement, le 16 octobre 1991 (température de l'eau: 14°C) et le 30 octobre 1991 (13°C). Il n'a pas été détecté dans l'échantillon du 25 octobre 1991. Depuis la fin octobre 1991, et bien que des prélèvements réguliers aient été effectués en novembre et en décembre notamment, il n'a pas été retrouvé.

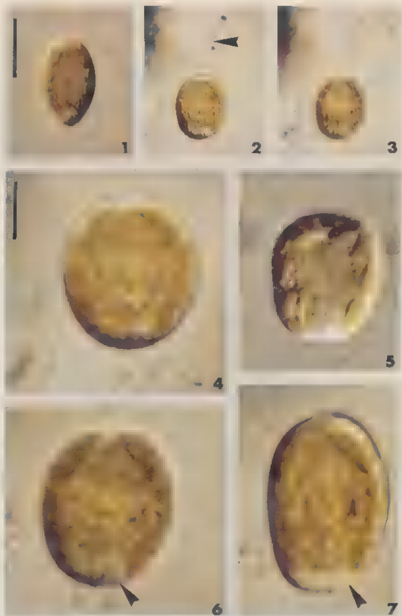
Les individus observés proviennent de l'un ou l'autre des prélèvements ci-dessus. Les cellules ont été examinées et photographiées avec un microscope interférentiel LEITZ Orthoplan, sans fixation préalable.[1]

OBSERVATIONS

Les cellules observées sont nues, tantôt allongées et ovoïdes (longueur = 37 μm au maximum; fig. 1), tantôt plus ramassées et arrondies (longueur = 22 μm; Fig. 5), de section circulaire ou très légèrement aplaties (largeur 20 μm en moyenne). Même chez les individus allongés, il n'y a pas de queue postérieure différenciée comme c'est le cas chez certaines espèces de *Chattonella*. Les cellules se déplacent assez lentement vers l'avant en tournoyant sur elles-mêmes. Ce mouvement est assuré par deux flagelles sub-égaux insérés à l'avant dans une petite dépression; le fouet antérieur est locomoteur et tire la cellule tandis que le fouet postérieur demeure raide et appliqué le long du

---

(1) Note ajoutée en cours d'impression: *Fibrocapsa japonica* vient à nouveau d'être observé à Luc-sur-Mer, le 29 juillet 1992, sans provoquer d'efflorescence.



Figs. 1-7: *Fibrocapsa japonica* Toriumi et Takano. Fig. 1: individu de forme ovoide. Figs. 2-3: deux vues d'une même cellule, moins allongée, dont la moitié inférieure est lestée de mucocystes. L'emplacement du noyau central est visible (fig. 2) ainsi que le flagelle antérieur (flèche) - Echelle 25 μm pour les figs. 1-3. Fig. 4: noter le réseau serré de chloroplastes. Fig. 5: vue montrant l'existence de chloroplastes pariétaux distincts et renflés. La région centrale correspond au noyau avec sa chromatine granuleuse; deux mucocystes allongés sont visibles. Fig. 6-7: deux individus différents avec mise au point sur la rangée antapicale de mucocystes (flèches) - Echelle 10 μm pour les figs. 4-7.

corps cellulaire. Ces flagelles sont difficiles à observer (Figs. 2, 3) d'autant que les cellules semblent, sans dommage, les perdre très facilement.

Comme toutes les chloromonadines, *Fibrocapsa japonica* possède un grand nombre de chloroplastes discoïdes, situés à la périphérie de la cellule: nous en avons compté plus de 25 et jusqu'à une trentaine ont été dénombrés chez cette espèce (Loeblich & Fine, 1977). Leur couleur jaune d'or à brun rappelle tout à fait celle des plastes des diatomées et nous avons même pensé dans un premier temps que ces cellules de *Fibrocapsa* représentaient des fragments protoplastiques expulsés de cellules de diatomées sénescentes, notamment d'*Odontella sinensis* (Gréville) Grunow qui dominait dans nos deux prélèvements. Les auteurs japonais (Toriumi & Takano, 1973; Hara & Chihara, 1985) insistent sur le fait que les plastes chez *Fibrocapsa japonica* sont étroitement accolés au point de donner l'apparence d'un seul chromatophore réticulé. S'il est vrai que les plastes sont effectivement serrés les uns contre les autres dans ce genre (Fig. 4) une bonne observation permet de déceler l'existence de nombreuses entités plastidiales distinctes (Fig. 5) confirmées par l'existence d'un renflement central dans chacune d'elles et correspondant au pyrénoïde. L'existence d'un ensemble d'une trentaine de chloroplastes brun-jaune étroitement accolés constitue néanmoins un caractère distinctif du genre *Fibrocapsa*. Comme chez toutes les Raphidophycées, il n'y a pas de stigma et le noyau, volumineux et sphérique, occupe le centre de l'endoplasme: son emplacement est bien bien visible (Figs. 2 et 5).

Un autre caractère remarquable chez *Fibrocapsa* est la présence de mucocystes (appelés aussi trichocystes par certains auteurs) de grande taille (2,5 à 4 µm de long): allongés et en forme de cigare, ces organites sont répartis dans la moitié inférieure de la cellule (Figs. 2, 3) et plus particulièrement au pôle postérieur où ils constituent une rangée très apparente de 5-6 éléments réfringents (Figs. 6, 7). La forme et la disposition de ces mucocystes, susceptibles de s'éjecter sous l'effet d'un traumatisme mécanique en formant des filaments muqueux, sont un caractère spécifique, voire générique de *Fibrocapsa* (Hara *in* Fukuyo *et al.*, 1990). Diverses Raphidophycées possèdent des trichocystes ou des mucocystes mais leur forme ainsi que leur disposition sont bien différentes de celles observées chez *Fibrocapsa japonica*. L'espèce est en outre dépourvue de globules osmiophiles apparents comme il en existe chez diverses *Chattonella*.

Dans le premier prélèvement observé (16 octobre), les cellules de *Fibrocapsa* ont été récoltées en surface de l'échantillon de plancton ramené au laboratoire, au sein de fragments flottants muqueux et brunâtres. Ces "peaux" qui avaient piégé des particules sédimentaires et diverses diatomées renfermaient, outre *Fibrocapsa*, un cortège non négligeable de *Nephroselmis*, petites Prasinophycées unicellulaires flagellées rarement signalées dans les relevés phytoplanctoniques. Dans le second prélèvement (30 octobre), les cellules de *Fibrocapsa* ont au contraire été récoltées au fond du récipient, après décantation du matériel: les *Fibrocapsa* étaient là encore accompagnés d'une population importante de *Nephroselmis* et de diatomées benthiques. Bien que la présence de kystes soit connue chez *F. japonica* (Yoshimatsu, 1987), ils n'ont pas été détectés dans nos prélèvements. Nous n'avons par ailleurs observé aucun phototactisme pour les cellules flagellées de *Fibrocapsa*. La faible quantité de matériel récolté ne nous a pas permis de tenter des isolements pour mise en culture.

DISCUSSION

La classe des Raphidophycées renferme un nombre réduit de genres, tous unicellulaires et flagellés. Les représentants dulçaquicoles ont pendant longtemps été les mieux connus, avec notamment deux genres décrits au siècle dernier, *Gonyostomum* Diesing et *Vacuolaria* Cienkowsky, présents dans les eaux acides du monde entier. Les Raphidophycées marines ont été récemment recensées (Sournia, 1986; Chrétiennot-Dinet, 1990) et totalisent quatre genres: *Fibrocapsa* Toriumi et Takano, *Olisthodiscus* Carter, *Heterosigma* Hada et *Chattonella* Biecheler. Les spécialistes s'accordent pour ne reconnaître qu'une seule espèce au sein de chacun des trois premiers genres, respectivement *F. japonica* Toriumi et Takano, *O. luteus* Carter et *H. akashiwo* (Hada) Hada. Le genre *Chattonella* possède une espèce saumâtre ou marine, le type *C. subsalsa*, et une demi-douzaine d'espèces marines connues surtout du Japon (Hara *in* Fukuyo *et al.*, 1990). Ces différents genres rangés dans la famille des Vacuolariacées se distinguent par la forme et la taille des cellules, le niveau d'insertion des flagelles, le nombre, la disposition et éventuellement la couleur des plastes et enfin la forme et la localisation des trichocystes mucocystes.

Le phytoflagellé observé dans les eaux de Luc-sur-mer en octobre 1991 correspond en tous points à *Fibrocapsa japonica*, chloromonadine décrite des côtes japonaises en 1973 par Toriumi & Takano. Sa diagnose a été récemment complétée par Hara & Chihara (1985) qui l'ont assortie d'une étude ultrastructurale. Les caractères, aisément observables au microscope optique, qui permettent son rattachement aux Raphidophycées, sont nombreux. Néanmoins cette espèce a parfois été confondue avec un dinoflagellé du genre *Prorocentrum* (sous le nom d'*Exuviaella*). L'absence totale de thèque chez *Fibrocapsa* comme chez toutes les Raphidophycées ne devrait pas permettre toutefois cette confusion. La fragilité des chloromonadines dans leur ensemble, due à une absence de paroi squelettique, explique pourquoi elles ne sont pas reconnaissables dans les échantillons de plancton fixé par les méthodes habituelles (lugol ou formol).

En dehors du Japon où *Fibrocapsa japonica* est bien connu et responsable d'eaux rouges, cette espèce n'a été signalée à notre connaissance qu'à deux reprises et uniquement sur les côtes nord-américaines. Récoltée une première fois en 1970 en Californie, à San Diego, par 2m de fond sous un effluent d'eaux usées, elle est considérée au départ comme une espèce d'*Exuviaella* (voir Loeblich & Fine, 1977), puis rapportée à *Fibrocapsa japonica* par Loeblich & Fine (1977) après examen de cultures. Elle est signalée une seconde fois par Smayda & Villareal (1989) sur la côte atlantique des Etats-Unis (Rhode Island, baie de Narragansett): ces auteurs notent qu'elle prolifère abondamment en 1985 de août à novembre, avec un maximum en octobre. L'espèce est par ailleurs un composant sporadique du phytoplancton de cette région.

Bien que *F. japonica* n'ait jamais été mentionné jusqu'ici sur les côtes européennes, il est bien possible qu'il existe ailleurs qu'en France, mais qu'il soit resté inaperçu en raison de sa rareté (?) et surtout de son mode de vie. En effet cette chloromonadine est non seulement néritique mais vraisemblablement benthique: un stade amoeboïde et un stade plasmopodial ont d'ailleurs été décrits en culture (Hara & Chihara, 1985) alors que les kystes ont été observés dans des sédiments au Japon (Yoshimatsu, 1987). *Olisthodiscus luteus* et *Heterosigma akashiwo* sont également néritiques et benthiques: *H. akashiwo* possède un stade non mobile de cellules agglutinées en masse (Hara & Chihara, 1987) alors que *O. luteus* est considéré comme un flagellé psammophile (Hara *et al.*, 1985; Larsen & Moestrup, 1989). Aucune de ces deux dernières espèces

n'a d'ailleurs été observée en France bien que présentes dans le Nord et le Sud de l'Europe. D'une manière générale, de tels organismes sont difficiles à repérer en dehors de périodes d'efflorescences. Une autre hypothèse peut cependant être évoquée à propos de *F. japonica*: il pourrait s'agir d'une introduction récente avec comme vecteur plausible le naissain d'huîtres japonaises importé en Normandie au début des années soixante-dix.

Si le nombre des Raphidophycées marines demeure restreint, celles-ci n'en sont pas moins fort intéressantes, ne serait-ce que parce que plusieurs d'entre elles peuvent provoquer des efflorescences nuisibles dans les régions côtières. C'est le cas notamment de plusieurs espèces de *Chattonella* (en dehors, semble-t-il, de *C. subsalsa* s.str.) et de *Heterosigma akashiwo* qui sont ichtyotoxiques. Les *Chattonella* sévissent surtout au Japon, avec en particulier *C. antiqua* (Hada) Ono et *C. marina* (Subrahmanyan) Hara et Chihara pour lesquels une méthode d'identification basée sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux a été mise au point récemment (Hiroishi *et al.*, 1988). *H. akashiwo*, longtemps confondu avec *O. luteus*, est une espèce cosmopolite qui a provoqué ces dernières années des mortalités de poissons dans diverses régions du globe (voir Hallegraeff, 1991) et en particulier en Ecosse et en Irlande. Alors que la toxicité de *O. luteus* s. str. n'est pas connue, *Fibrocapsa japonica* est une des espèces dominantes dans les efflorescences côtières du Japon (Hara & Chihara, 1985) et elle a été associée à la mortalité d'animaux marins (Iwasaki, 1971; Toriumi & Takano, 1973). A ce titre, sa prolifération et son extension éventuelles comme celles de l'ensemble des Raphidophycées marines méritent d'être surveillées.

BIBLIOGRAPHIE

BIECHELER B., 1936 - Sur une chloromonadine nouvelle d'eau saumâtre *Chattonella subsalsa* n. gen., n. sp. *Arch. Zool. Exp. Gen.* 78: 79-83.

CHRETIENNOT-DINET M.J., 1990 - *Atlas du phytoplancton marin. Vol. 3. Chlorarachniophycées, Chlorophycées, Chrysophycées, Cryptophycées, Euglénophycées, Eustigmatophycées, Prasinophycées, Prymnésiophycées, Rhodophycées, Tribophycées.* Editions du CNRS, Paris, 261 p.

FUKUYO Y., TAKANO H., CHIHARA M. & MATSUOKA K. (Edit.), 1990 - *Red tide organisms in Japan - An illustrated taxonomic guide.* Uchida Rokakuho, Tokyo, Japan, 430p.

HALLEGRAEFF G.M., 1991 - *Aquaculturists' guide to harmful australian microalgae.* CSIRO Division of Fisheries, Fishing Industry Training Board of Tasmania Inc., 111 p.

HARA Y. & CHIHARA M., 1985 - Ultrastructure and taxonomy of *Fibrocapsa japonica* (Class Raphidophyceae). *Arch. Protistenk.* 130: 133-141.

HARA Y. & CHIHARA M., 1987 - Morphology, ultrastructure and taxonomy of the raphidophycean alga *Heterosigma akashiwo*. *Bot. Mag. Tokyo* 100: 151-163.

HARA Y., INOUYE I. & CHIHARA M., 1985 - Morphology and ultrastructure of *Olisthodiscus luteus* (Raphidophyceae) with special reference to the taxonomy. *Bot. Mag. Tokyo* 98: 251-262.

HIROISHI S., UCHIDA A., NAGASAKI K. & ISHIDA Y., 1988 - A new method for identification of inter- and intra-species of the red tide algae *Chattonella antiqua* and *Chattonella marina* (Raphidophyceae) by means of monoclonal antibodies. *J. Phycol.* 24: 442-444.

IWASAKI H., 1971 - Studies on the red tide flagellates. VI. On *Eutreptiella* sp. and *Exuviaella* sp., appeared in Bingo-Nada, the Seto Inland Sea, in 1970. *J. Oceanogr. Soc. Japan* 27: 152-157.

LARSEN J. & MOESTRUP Ø., 1989 - *Guide to toxic and potentially toxic marine algae.* The Fish Inspection Service, Ministry of Fisheries, Copenhagen, 61 p.

LOEBLICH A.R. III & FINE K., 1977 - Marine Chloromonads: more widely distributed in neritic environments than previously thought. *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 90: 388-399.

MIGNOT J.P., 1976 - Compléments à l'étude des chloromonadines. Ultrastructure de *Chattonella subsalsa* Biecheler flagellé d'eau saumâtre. *Protistologica* 12: 279-293.

SIEBURTH J.McN., JOHNSON P.W. & HARGRAVES P.E.H., 1988 - Ultrastructure and ecology of *Aureococcus anophagefferens* gen. et sp. nov. (Chrysophyceae): the dominant picoplankter during a bloom in Narragansett Bay, Rhode Island, Summer 1985. *J. Phycol.* 24: 416-425.

SMAYDA T. & VILLAREAL T., 1989 - The 1985 "brown-tide" and the open phytoplankton niche in Narragansett Bay during Summer. *In* COSPER E.M., BRICELJ V.M. & CARPENTER E.J. (Eds), *Novel phytoplankton blooms: causes and impacts of recurrent brown tides and other unusual blooms.* Coastal and Estuarine Studies 35, Springer-Verlag, Berlin, pp. 165-187.

SOURNIA A., 1986 - *Atlas du phytoplancton marin. Vol. 1. Introduction, Cyanophycées, Dictyochophycées, Dinophycées, Raphidophycées.* Editions du CNRS, Paris, 219 p.

SOURNIA A., BELIN C., BERLAND B., ERARD- LE DENN E., GENTIEN P., GRZEBYK D., MARCAILLOU-LE BAUT C., LASSUS P. & PARTENSKY F., 1991 - *Le phytoplancton nuisible des côtes de France, de la biologie à la prévention.* CNRS IFREMER, Service de la Documentation et des Publications IFREMER, Brest, 154 p.

TORIUMI S. & TAKANO H., 1973 - *Fibrocapsa*, a new genus in Chloromonadophyceae from Atsumi Bay, Japan. *Bull. Tokai Regional Fish. Res. Lab.* 76: 25-35.

TREGOUBOFF G., 1962 - Sur l'invasion de la baie de Villefranche-sur-mer en juin 1961 par *Chattonella subsalsa* Biecheler. *Cah. Centre Etudes Rech. Biol. Ocean. Méd.* 1: 9-13.

YOSHIMATSU S., 1987 - The cysts of *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae) found in bottom sediment in Harima-Nada, Eastern Inland Sea of Japan. *Bull. Plankton Soc. Japan* 34: 25-31.



OUVRAGES REÇUS POUR ANALYSE

CABIOCH J., FLOCH J.-Y., LE TOQUIN A. (Manche Atlantique), BOUDOURESQUE C.-F., MEINESZ A. & VERLAQUE M. (Méditerranée), 1992 - **Guide des algues des mers d'Europe.** Delachaux et Niestlé, Paris, 231 p. Prix: 178 FF.

Cet ouvrage s'adresse au grand public et ne présente que les "algues pluricellulaires les plus communes et les plus aisément identifiables" des côtes européennes (Atlantique et Méditerranée). L'identification des algues marines est un sujet dont la vulgarisation est fort mal aisée et les ouvrages dans ce domaine ne sont pas légion. Les auteurs ont pourtant relevé le défi avec succès et il faut souligner l'étendue de la zone géographique étudiée dans ce guide ainsi que l'utilisation systématique des photographies en couleurs avec une ampleur sans précédent pour les algues.

Un avant-propos expose clairement les difficultés qui rendent périlleux, aux personnes non averties, l'approche de l'identification des algues et les limites qui en résultent pour les utilisateurs du guide. Cet avant-propos est suivi d'une introduction générale, comportant une présentation simplifiée des algues, leur situation dans le règne végétal, leurs particularités biologiques, leurs divers mode de propagation et leur longévité. Les trois grands groupes d'algues possédant des représentants marins identifiables dans le cadre de cet ouvrage sont présentés à leur tour: algues "vertes" (Ulvophycées), "brunes" (Fucophycées), "rouges" (Rhodophycées). Un exposé très complet de l'environnement marin et des facteurs influant sur la biologie des algues fait suite à ces divers points. Un bref aperçu de l'utilisation des algues et des différentes manières de les conserver complètent cette introduction.

L'ouvrage, qui prend en compte près de 360 taxons dont 230 illustrés (aux représentants des groupes d'algues cités *supra* s'ajoutent une Cyanophycée, cinq Phanérogames marines et la mention, dans le texte, des principaux lichens marins), est divisé en deux parties: une première partie "Atlantique" et une seconde partie "Méditerranée". Les deux parties suivent à peu près le même plan et contiennent approximativement le même nombre d'espèces (certains taxons sont présentés dans chacune des deux parties en raison de leur grande différence de physionomie qu'ils peuvent présenter dans l'une et l'autre région). Le lecteur y trouvera une présentation phytogéographique incluant les problèmes, parfois spectaculaires et d'actualité, d'intégration d'espèces exotiques et une synthèse remarquable de l'écologie des algues, sur les côtes rocheuses à forte marée aussi bien qu'en Méditerranée. Les milieux meubles sont aussi évoqués. Les espèces sont ensuite décrites, avec l'étymologie de leur nom, certaines de leurs caractéristiques biologiques, leur écologie, leur distribution géographique, et de nombreux détails significatifs permettant de s'assurer au mieux de leur correcte identification. Les deux tiers d'entre elles sont illustrés d'une photographie couleur. En ce domaine, les auteurs de la partie "Atlantique" n'ont pas choisi la facilité puisque les algues, déjà par nature fort difficiles à photographier, sont presque toutes prises entières, en aquarium, éclairées au flash, en partie par transparence et sur fond noir. Alain Le Toquin a vaincu la difficulté et obtenu un résultat esthétique remarquable. Les photographies de la partie

"Méditerranée", un peu moins nombreuses, sont effectuées avec des techniques plus variées; on notera en particulier de très belles prises de vues sur le terrain dont certaines en plongée sous-marine. Cette abondante illustration devrait diminuer la difficulté liée à la grande variabilité morphologique des algues qui est déroutante pour les naturalistes amateurs. Comme les auteurs le communiquent à leurs collègues, il s'est glissé, dans les premiers exemplaires, deux coquilles lors de l'impression: les figues 130 et 131 sont inversés et, pages 76-77, la figure 56 censée illustrer l'espèce *Bifurcaria bifurcata*, représente en réalité *Himanthalia elongata*.

Un glossaire des termes utilisés et une bibliographie sélective d'ouvrages complémentaires terminent et complètent cet ensemble.

L'ouvrage constitue un outil qui faisait cruellement défaut pour le grand public et où les étudiants pourront trouver des informations précieuses. Il faut féliciter les auteurs d'avoir brillamment comblé cette lacune, nous permettant ainsi de partager leur grande expérience de terrain.

B. de Reviers

SIMONSEN R., 1992 - **The diatoms types of Heinrich Heiden in Heiden & Kolbe 1928.** Bibliotheca Diatomologica 24, 100 p., 86 pl., Berlin-Stuttgart, J. Cramer.

Heiden et Kolbe ont étudié les Diatomées marines de l'expédition Sud-polaire allemande de 1901-1903. Heiden est décédé en avril 1925. Les auteurs décrivaient dans leur travail 2 genres nouveaux, 92 espèces nouvelles et 51 variétés et 20 formes. Simonsen a repris les préparations originales de Heiden et présente ces nouveautés dans une série de 86 planches donnant d'excellentes microphotos des 163 taxons créés par Heiden: ainsi ces taxons sont "typifiés" et leur création est conforme aux règles internationales de la nomenclature botanique.

Ce volume constitue le complément indispensable du travail de Heiden et Kolbe de 1928 (Deutsch. Südpol. Exped. 8, Bd. 5: 450-715; cependant il est regrettable que les diagnoses originales de ce mémoire n'aient pas été reproduites ici.

P. By

Commission paritaire 16-1-1986 - N° 58611 - Dépôt légal 3e trimestre 1992 - Imprimerie F. Paillart
Sortie des presses le 31 août 1992 - Imprimé en France
Éditeur : A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames)
Président : R. Baudoin ; Secrétaire : D. Lamy
Trésorier : J. Dupont ; Directeur de la publication : H. Causse

CRYPTOGAMIE

LE PÉRIODIQUE FRANÇAIS CONSACRÉ A LA CRYPTOGAMIE

CRYPTOGAMIE est un périodique édité par l'A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames), dont le siège est au Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle. Les chercheurs de tous pays y publient leurs travaux en français, allemand, anglais, espagnol et italien, après accord des Comités de Lecture constitués de spécialistes de réputation internationale.

CRYPTOGAMIE propose trois sections:

Cryptogamie, Algologie
Cryptogamie, Mycologie
Cryptogamie, Bryologie-Lichénologie

Chaque section publie 4 numéros par an (tirage: 450 exemplaires).

THE FRENCH JOURNAL DEVOTED TO CRYPTOGAMY

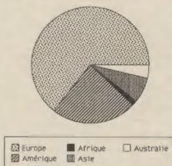
CRYPTOGAMIE is a periodical published by A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames), settled at Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle. Research workers from the whole world publish their papers in French, German, English, Spanish and Italian, after acceptation by a selection commettee that comprises experts of international renown.

CRYPTOGAMIE offers to its subscribers three sections:

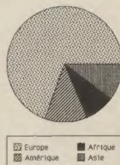
Cryptogamie, Algologie
Cryptogamie, Mycologie
Cryptogamie, Bryologie-Lichénologie

Each section publishes 4 numbers a year (printing: 450 ex.).

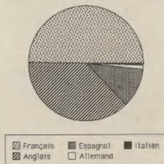
Diffusion de CRYPTOGAMIE



Origine des 453 articles publiés de 1986 à 1991



Répartition des articles publiés de 1986 à 1991 selon la langue



Source : MNHN, Paris

SOMMAIRE

A.J. CALADO and J.A. RINO - Observations and taxonomic considerations on a *Tetrasporidium* (Chlorophyta, Tetrasporales) found in Portugal 157

G. NOVARINO et A.R. MUFTAH - Observations sur les filaments mucilagineux chez quelques espèces de *Mastogloia* (Bacillariophycées) 169

O.H. SAYED and A.K. HEGAZY - Inhibition of secondary carotenoid biosynthesis during degreening of *Chlorella fusca* (Chlorococcales, Chlorophyta) and implications for growth and survival 181

M. MORLAIX et P. LASSUS - Influence de l'azote et du phosphore sur la croissance et la toxicité de *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) Dodge 187

M. PENOT - Le transport à longue distance chez les grandes algues - Acquis et perspectives - 197

C. BILLARD - *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae), algue planctonique nouvelle pour les côtes de France 225

Ouvrages reçus pour analyse 233

Cryptogamie, Algologie 1993, 13 (3): 157-234